

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina



TESIS DOCTORAL

Utilidad de la triptasa sérica en el seguimiento de las mastocitosis sistémicas indolentes de adulto

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Almudena Matito Bernechea

Directores

Luis Escribano Mora
Ángel del Palacio Pérez-Medel
Laura Sánchez Muñoz

Madrid, 2013



Universidad Complutense de Madrid

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina

“UTILIDAD DE LA TRIPTASA SÉRICA EN EL SEGUIMIENTO DE LAS
MASTOCITOSIS SISTÉMICAS INDOLENTES DEL ADULTO”

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

Autor

Almudena Matito Bernechea

Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla-La Mancha,
Hospital Virgen del Valle, Toledo

Directores

Dr. Luis Escribano Mora

*Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla-La Mancha,
Hospital Virgen del Valle, Toledo*

Dr. Ángel del Palacio Pérez-Medel

*Servicio de Medicina Interna
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid*

Dra. Laura Sánchez Muñoz

*Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla-La Mancha,
Hospital Virgen del Valle, Toledo*

Madrid, Enero de 2013

“NULLIUS IN VERBA”

Horacio

Dedico estas palabras y todo mi agradecimiento a cada una de las personas excepcionales que de un modo u otro han contribuido a que esta larga tarea finalmente haya tomado forma y haya visto la luz.

Al Doctor Luis Escribano, por muchos y varios motivos tanto profesionales como personales, entre los que se incluyen: concederme el honor de dirigir esta Tesis, permitirme acceder a un grupo de trabajo de una excelente calidad científica y humana a pesar de ser una recién titulada “alergóloga inexperta”; y sobre todo, mostrarme su mente brillante e inquieta, así como un carácter paciente y tolerante por lo que siempre le consideraré como mi maestro y mentor.

Al Doctor Ángel del Palacio, Director de la presente Tesis; a quien agradezco su cercanía, accesibilidad, colaboración y confianza para desarrollar este proyecto, así como la calmada guía y ejemplo que supuso para una joven médico que comenzaba a dar sus primeros pasos profesionales en el Hospital 12 de Octubre.

A la Doctora Laura Sánchez Muñoz, también Directora de esta Tesis; gracias por manifestar un sentido crítico y amable siempre en el momento preciso consiguiendo poner cordura allí donde reina el caos, por ser una excelente profesional de la que espero tener la oportunidad de seguir aprendiendo, y por ser una compañera paciente y cercana.

Al Doctor Alberto Orfao, principalmente le agradezco haberme hecho partícipe de su “clarividencia” en tantas ocasiones, así como su dedicación científica inagotable, y su apoyo inestimable para realizar este trabajo.

Al Doctor Carlos Pedreira, matemático allende los mares sin el que no hubiera sido posible sacar conclusión alguna del tumulto de triptasas que aquí se organizó.

A todos mis compañeros del Instituto de Estudios de Mastocitosis, con mención de Mario e Iván, a quienes agradezco especialmente que hayan dedicado gran parte de su tiempo a elaborar e impartir los cursos de “Introducción al SPSS

y otros programas estadísticos”, sin los que yo aún no sabría nada de las pruebas de Kruskall Wallis, χ^2 ... y demás. Así como a Paula, con la que he compartido poco tiempo, pero cuyo apoyo y colaboración final han sido inestimables.

A todos los compañeros del Servicio General de Citometría y Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca: Andrés, Cristina y María, gracias por resolver siempre mis dudas con la competencia y amabilidad que os caracteriza; y por dedicar vuestro trabajo a ampliar el conocimiento de una enfermedad en la que somos muy pocos los implicados.

En última posición en este texto, pero sin ninguna duda en primer lugar en mi corazón, quiero expresar mi agradecimiento a mi familia, mis padres Marisa y Martín, mi hermano Javier y mis tías Marina y Joaquina, quienes siempre me han prestado su cariño, confianza y apoyo incondicional ante cualquier proyecto personal o profesional que he decidido llevar a cabo, y que han sido quienes han sufrido y solventado mis momentos bajos, en este trabajo... ¡y en mi vida!.

Por supuesto, tampoco puedo olvidarme de todos mis amigos que han permanecido a mi lado, a pesar de desaparecer más de lo que a mí me hubiera gustado un fin de semana sí y otro también por encontrarme inmersa en este trabajo.

ÍNDICE

Abstract	1
Resumen.....	5
Abreviaturas	11
I- Introducción	16
<i>A. El mastocito.....</i>	<i>17</i>
A.1. Morfología y características inmunofenotípicas del mastocito normal en la médula ósea.....	19
A.2. Función del mastocito	20
A.3. Mecanismos de activación del mastocito.....	21
<i>B.Triptasa sérica.....</i>	<i>23</i>
<i>C. Mastocitosis</i>	<i>25</i>
C.1. Características morfológicas de los mastocitos en las mastocitosis	26
C.2. Características histológicas de la médula ósea en las mastocitosis sistémicas	27
C.3. Características inmunofenotípicas de los mastocitos en las mastocitosis sistémicas	28
C.4. Mutaciones del gen KIT en las mastocitosis	29
C.5. Utilidad de la triptasa sérica en el diagnóstico de mastocitosis	32
C.6. Utilidad de la triptasa sérica en el diagnóstico de los síndromes de activación mastocitaria sistémicos.....	33
C.7. Utilidad de la triptasa sérica en el seguimiento de las mastocitosis sistémicas	34
<i>D. Diagnóstico y clasificación de las mastocitosis del adulto</i>	<i>35</i>
D.1. Criterios directos.....	35
D.1.1. Criterio diagnóstico mayor.....	35
D.1.2. Criterios diagnósticos menores.....	35
D.2. Criterios indirectos.....	35
D.3. Clasificación de las mastocitosis según la Organización Mundial de la Salud.....	36
D.3.1. Mastocitosis cutánea	36
D.3.2. Mastocitosis sistémica.....	36
D.3.3. Mastocitoma extracutáneo	37
D.4. Criterios de la Organización Mundial de la Salud para establecer el carácter agresivo de la enfermedad.....	37
D.4.1. Criterios "B"	37
D.4.2. Criterios "C"	37

<i>E. Características específicas de las distintas categorías de mastocitosis sistémicas</i>	<i>39</i>
E.1. Mastocitosis sistémica indolente.....	39
E.1.1 Mastocitosis sistémica indolente sin lesión cutánea.....	40
E.2. Mastocitosis sistémica bien diferenciada	41
E.3. Mastocitosis sistémica agresiva	41
E.4. Leucemia de mastocitos	42
<i>F. Manifestaciones clínicas en las mastocitosis</i>	<i>44</i>
F.1. Síntomas secundarios a la liberación de mediadores mastocitarios	44
F.2. Síntomas secundarios a la infiltración tisular por mastocitos.....	45
<i>G. Tratamiento de los síntomas asociados a la liberación de mediadores mastocitarios</i>	<i>46</i>
II- Hipótesis y objetivos de trabajo.....	48
A. Hipótesis de trabajo	49
B. Objetivos	49
B.1. Objetivo general	49
B.2. Objetivos específicos.....	49
III- Material y Métodos	50
A. Tipo de estudio y selección de pacientes	51
A.1. Criterios de inclusión.....	51
B. Diagnóstico de las mastocitosis sistémicas del adulto	52
B.1. Datos clínicos.....	52
B.2. Datos de laboratorio	52
B.3. Estudios de imagen.....	53
B.4. Estudio de médula ósea.....	54
B.4.1. Estudio citológico.....	54
B.4.2. Estudio histológico e inmunohistoquímico	54
B.4.3. Inmunofenotipo.....	55
B.4.4. Separación de mastocitos y otras células hematopoyéticas de la médula ósea	56
B.4.5. Biología molecular	56
C. Variables del estudio	58
C.1. Datos epidemiológicos	58
C.2. Datos clínicos.....	58
C.3. Variables diagnósticas.....	58
C.4. Variables relacionadas con el tratamiento	59
C.5. Variables evolutivas a los 48 meses y al final del seguimiento	59

<i>D. Progresión de las mastocitosis sistémicas indolentes.....</i>	<i>61</i>
<i>E. Métodos estadísticos</i>	<i>62</i>
IV- Resultados.....	64
<i>A. Características epidemiológicas y clínicas de los pacientes al inicio del estudio</i>	<i>65</i>
<i>B. Diagnóstico de mastocitosis sistémica indolente</i>	<i>67</i>
<i>C. Evolución de los valores de la triptasa sérica basal.....</i>	<i>70</i>
C.1. Patrones de evolución de la pendiente de la triptasa sérica basal en los primeros 48 meses de seguimiento	70
C.2. Determinación del punto de corte óptimo de la pendiente de variación de la triptasa a los 48 meses del estudio inicial.....	72
<i>D. Características clínicas y evolución de las mastocitosis sistémicas indolentes empleando el punto de corte de la pendiente de triptasa sérica basal de 0,15 a los 48 meses de seguimiento.</i>	<i>73</i>
D.1. Criterios “B y C”	74
D.2. Progresión de las mastocitosis sistémicas indolentes	76
V-Discusión.....	77
VI- Conclusiones	92
VII- Corolario Práctico.....	94
VIII- Bibliografía	97
IX- Tablas	120
X- Figuras	137
XI- Anexos	159
<i>Anexo I. Protocolos específicos para situaciones de riesgo en las mastocitosis</i>	<i>160</i>
Las mastocitosis.....	160
<i>Anexo II. Comunicaciones científicas y menciones generadas en el curso de la presente Tesis Doctoral</i>	<i>176</i>

ABSTRACT

BACKGROUND

Systemic mastocytosis includes a heterogeneous group of disorders with increased mast cell numbers in different organs and tissues. The clonal nature of mastocytosis can be established in virtually every case through demonstration of exon-17 *KIT* mutations in mast cells.

Mast cells contain tryptase which is also present in smaller quantities in blood basophils. Increased total serum baseline tryptase is a minor diagnostic criterion for systemic mastocytosis. In addition, serum baseline tryptase levels in systemic mastocytosis have been associated with the total body mast cell burden, the extent of bone marrow involvement, diffuse bone sclerosis, and the progression of the disease. However, markedly increased serum baseline tryptase levels have been found in disease conditions other than mastocytosis such as anaphylactic episodes. Furthermore, serum baseline tryptase monitoring is a useful tool to assess the response to cytoreductive as well as targeted therapies in systemic mastocytosis; however, the utility of serum baseline tryptase monitoring in indolent systemic mastocytosis as a surrogate marker for multilineage involvement by the *KIT* mutation and disease progression has not been investigated.

OBJECTIVES

To investigate the utility of serum baseline tryptase monitoring in indolent systemic mastocytosis as a surrogate marker for multilineage involvement by the *KIT* mutation and disease progression.

To analyze the characteristics of indolent systemic mastocytosis patients according to the evolution of serum baseline tryptase levels.

METHODS

A retrospective longitudinal study was carried out, indolent systemic mastocytosis adult patients referred to the Spanish Network on Mastocytosis from March 1995 to June 2006 were included.

Inclusion criteria were: i) ≥ 48 months of follow-up, ii) ≥ 3 serum baseline tryptase determinations at this period, iii) *KIT* mutational analysis performed in highly purified mast cells and other hematopoietic lineages, iv) absence of diffuse bone sclerosis at first serum baseline tryptase determination, and v) no cytoreductive therapy.

Serum baseline tryptase data were interpolated, so all patients had estimated measures at the same time points within the 48 months range. Based on a K-means clustering analysis, patients were classified into three groups according to the pattern of evolution of their serum baseline tryptase levels during the first 48 months of follow-up.

Variation in serum baseline tryptase was estimated by using a linear regression model to establish the relationship between serum baseline tryptase levels and the time of follow-up of the disease, and to calculate the time-associated changes in serum baseline tryptase levels, reflecting stable, increasing and decreasing levels a slope of the best linear fit equal to 0, positive or negative, respectively.

Optimal cut-off values of the slope of the best linear fit for predicting both multilineal *KIT* mutation and progression were calculated by receiver operating characteristic (ROC) curves.

RESULTS

Overall, 74 indolent systemic mastocytosis adult patients were studied. According to the pattern of evolution of serum baseline tryptase levels during the first 48 months of follow-up, 16 (22%) cases had decreasing serum baseline tryptase levels, 10 (13%) patients showed a fluctuating pattern and 48 (65%)

cases showed increasing serum baseline tryptase levels. All cases (16/16) with decreasing serum baseline tryptase had mast cells restricted *KIT* mutation while most multilineal cases (17/19) had increasing serum baseline tryptase ($p=0.02$). The serum baseline tryptase slope was significant higher in the multilineal vs. mast cells restricted *KIT* mutation groups, and a serum baseline tryptase slope ≥ 0.15 after 48 months of follow-up together with the development of hepatomegaly plus splenomegaly was the best combination of independent parameters to predict for multilineal *KIT* mutation, the former also predicting for progression of indolent systemic mastocytosis to smouldering and aggressive systemic mastocytosis. In addition, only the multilineal cases (5/19) developed diffuse bone sclerosis, which suggests the existence of a close association between these two features

CONCLUSIONS

Monitoring of serum baseline tryptase as well as the presence of hepatomegaly plus splenomegaly in indolent systemic mastocytosis patients are powerful predictors for both multilineal *KIT* mutation, the former also predicting for disease progression, pointing out the need for a closer follow-up in indolent systemic mastocytosis patients with progressively increasing serum baseline tryptase values.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

Las mastocitosis sistémicas se caracterizan por una expansión clonal de mastocitos en diversos tejidos, como la piel, la médula ósea, el tubo digestivo y el hueso, entre otros. En cerca del 93% de las mastocitosis sistémicas del adulto se detecta la presencia de una mutación somática, activadora de la molécula KIT (Asp816Val) que favorece la activación y proliferación de mastocitos de manera independiente del stem cell factor.

La triptasa es una proteína, que es principalmente producida y almacenada por los mastocitos, y en una mínima cantidad por los basófilos. La elevación de sus niveles se incluyó como criterio diagnóstico de las mastocitosis sistémicas en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud, y además, se ha relacionado en las mastocitosis sistémicas con la carga total de mastocitos presente en el organismo, con el grado de infiltración de la médula ósea, con la presencia de esclerosis ósea difusa y con la progresión de la enfermedad; así como con otras situaciones patológicas como los episodios anafiláticos sobre todo si asocian compromiso hemodinámico. Por otra parte, la monitorización de la triptasa sérica ha resultado útil para controlar la respuesta al tratamiento citorreductor, inmunomodulador o con fármacos diana en las mastocitosis; sin embargo, hasta el momento no se ha investigado la utilidad de la evolución de los niveles de triptasa sérica basal para establecer el pronóstico de las mastocitosis sistémicas indolentes.

OBJETIVOS

Como objetivo general del estudio se estableció investigar la utilidad de monitorizar de manera secuencial los niveles de triptasa sérica basal en el seguimiento de las mastocitosis sistémicas indolentes del adulto. Además, con el fin de establecer el pronóstico de la enfermedad según la evolución de los niveles de triptasa sérica basal, se fijaron como objetivos específicos: i) determinar la capacidad de la evolución de los valores de triptasa sérica basal para predecir la presencia de la mutación de *KIT* multilíneal en las mastocitosis sistémicas

indolentes; ii) valorar la capacidad de la evolución de los valores de triptasa sérica basal para predecir la aparición de progresión; iii) analizar las características de las MSI agrupadas según la evolución de los valores de la triptasa sérica basal.

METODOLOGÍA

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo longitudinal, en el que se incluyeron los pacientes adultos remitidos a la Red Española de Mastocitosis entre marzo de 1995 y junio de 2006, que cumplían los criterios diagnósticos para MSI y que dieron su consentimiento para participar en el estudio.

Estos casos cumplían los siguientes criterios de inclusión: i) tiempo mínimo de seguimiento de 48 meses, ii) al menos 3 determinaciones de triptasa sérica en una situación clínica basal durante este periodo, iii) ausencia de esclerosis ósea difusa en la primera determinación de triptasa sérica, iv) tratamiento antimedador conservador, sin emplear fármacos citorreductores, inmunomoduladores o fármacos diana durante el periodo de estudio, y v) haberse realizado el estudio de *KIT* en mastocitos de médula ósea y otras células hematopoyéticas purificadas.

Tras realizar una interpolación para que todos los pacientes tuvieran valores de triptasa estimados en los mismos momentos, se establecieron 3 grupos de pacientes mediante el análisis de conglomerados de medias, para agrupar los casos que presentaban un patrón similar de evolución de la triptasa basal durante los primeros 48 meses de seguimiento. Además, se estimó la tendencia de evolución de los valores de triptasa sérica basal por regresión lineal, de modo que se estableció la relación entre los niveles de triptasa y el tiempo de seguimiento de la enfermedad, y se calculó la pendiente de la recta. Una pendiente de triptasa igual a 0, positiva o negativa indicaban una evolución estable, ascendente o descendente, respectivamente, de los valores de la triptasa sérica basal. Por último, se emplearon las curvas de características operativas del receptor (ROC) para obtener los puntos de corte óptimos de los valores de la

pendiente de la triptasa capaces de predecir la presencia de la mutación de *KIT* multilíneal y de la progresión.

RESULTADOS

Se incluyeron 33 (45%) hombres y 41 (55%) mujeres en este estudio. La mediana de edad al inicio de los síntomas fue de 28 años (rango: 0-72 años), mientras que se obtuvo una mediana de edad de 41 años (rango: 15-72 años y 16-74 años) tanto para la edad en el momento de la primera determinación de triptasa sérica basal como para la edad en el momento de realizar el estudio de médula ósea, que confirmó el diagnóstico de mastocitosis sistémica indolente. Al finalizar el estudio, la mediana de tiempo de seguimiento fue de 113 meses (rango: 51-193 meses), habiéndose incluido un total de 787 determinaciones de triptasa sérica basal, con una mediana de 9 determinaciones de triptasa por paciente (rango: 3-24).

El primer estudio de médula ósea se realizó en una mediana de tiempo de 75 meses (rango: 0-463 meses) desde el inicio de la enfermedad, y en el mismo mes (rango: 0-91 meses) que se determinó la primera triptasa sérica basal. Todos los casos mostraron por citometría la presencia de mastocitos con un inmunofenotipo aberrante, con expresión de CD25 y una mediana de porcentaje de mastocitos de 0,1% (rango: 0,001%-1,7%).

Se detectó la mutación D816V de *KIT* multilíneal en 19 casos (26%), mientras que en los restantes 55 pacientes la mutación se encontraba restringida a los mastocitos.

Según el patrón de evolución de los niveles de triptasa sérica basal en los primeros 48 meses de seguimiento, 16 casos (22%) mostraron una evolución descendente en los niveles de triptasa (PD) desde el inicio del estudio; otros 10 pacientes (13%) tuvieron un patrón de evolución fluctuante (PF), mientras que los 48 casos (65%) restantes presentaron una evolución ascendente (PA). Cabe destacar, que todos los casos -16 (100%)- con un patrón descendente presentaban la mutación de *KIT* restringida al mastocito, mientras que la mayoría

de los pacientes con la mutación multilíneal -17 (89%)- pertenecían al grupo con patrón ascendente en los niveles de triptasa sérica basal ($p=0,02$).

Se determinó que el valor de la pendiente de triptasa $\geq 0,15$ tras 48 meses era el mejor punto de corte para predecir la mutación multilíneal en las mastocitosis sistémicas indolentes, con un área bajo la curva (ABC) de 73% (IC 95%: 60% - 86%, $p=0,002$).

De todos los casos, 43 (58%) y 31 (42%) presentaron una pendiente de triptasa $< y \geq 0,15$ a los 48 meses de seguimiento, respectivamente. El incremento progresivo de la triptasa con una pendiente $\geq 0,15$ y la aparición de hepatomegalia con esplenomegalia resultaron los únicos factores independientes para predecir la presencia de mutación multilíneal de *KIT* ($p=0,01$, y $p=0,009$, respectivamente); aunque además, todos los casos con esclerosis ósea difusa tenían la mutación *KIT* multilíneal ($p=0,001$). El análisis multivariado confirmó que una pendiente de triptasa $\geq 0,15$ junto con la aparición de hepatomegalia con esplenomegalia era la mejor combinación de factores para predecir la presencia de mutación de *KIT* multilíneal con una sensibilidad del 26% y especificidad del 100% (19% de falsos negativos y 0% de falsos positivos).

En total 4 casos progresaron a una mastocitosis sistémica smouldering tras una mediana de tiempo de seguimiento de 49 meses (rango: 8 - 85 meses), todos estos casos asociaron una pendiente de triptasa $\geq 0,15$ ($p=0,03$), así como un patrón ascendente de triptasa sérica basal (PA) y la mutación de *KIT* multilíneal ($p=0,003$). Además, 2 de estos casos progresaron a una mastocitosis sistémica agresiva tras 56 y 94 meses de seguimiento. La pendiente de triptasa $\geq 0,15$ tras 48 meses de seguimiento también resultó ser un factor capaz de predecir la progresión de las mastocitosis sistémicas indolentes a formas más agresivas de la enfermedad como las mastocitosis sistémicas smouldering y agresivas ($p=0,03$). Todos los pacientes incluidos en este estudio continuaban vivos al cierre del mismo.

CONCLUSIONES

La monitorización seriada de los niveles de triptasa sérica basal, así como la detección de hepatomegalia con esplenomegalia durante el seguimiento de los pacientes con mastocitosis sistémica indolente, son unos marcadores adecuados para predecir la presencia de la mutación multilíneal de *KIT* y un peor pronóstico al asociar un mayor riesgo de progresión de la enfermedad. Así mismo, todos los casos que presentaron esclerosis ósea difusa tenían la mutación multilíneal, por lo que esta alteración ósea también puede resultar útil para sospechar la asociación de la mutación de *KIT* multilíneal.

ABREVIATURAS

AAS: Ácido acetil salicílico

ABC: Área bajo la curva

AcMo: Anticuerpos monoclonales

AINEs: Antiinflamatorios no esteroideos

APC: Aloficocianina

APCH7: Aloficocianina H7

ARN: Acido ribonucleico

BDZ: Benzodiacepinas

CD25: Cadena alfa del receptor para la interleucina 2

CPA: Carboxipeptidasa

c-SAMS: Síndrome de activación mastocitaria sistémico clonal

ECO: Ecografía

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

FACS: Fluorescence-activated cell sorting

FcεRI: Receptor de alta afinidad para la inmunoglobulina E

FIA: Fluoroinmunoanálisis

FITC: Isotiocianato de fluoresceína

FP: Falsos positivos

gADN: Ácido desoxirribonucleico genómico

HE: Hematoxilina-eosina

HUMARA: Human androgen receptor

IBP: Inhibidor de la bomba de protones

IC: Intervalo de confianza

ICOX2: Inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa 2

IgE: Inmunoglobulina E

IgG: Inmunoglobulina G

IL: Interleucina

IMF: Intensidad media de fluorescencia

ISRS: Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina

LM: Leucemia de mastocitos

LMA: Leucemia mieloide aguda

LT: Leucotrieno

MC: Mastocito

MCMO: Mastocitos en médula ósea

MGG: May-Gründwald-Giemsa

MS: Mastocitosis sistémica

MSA: Mastocitosis sistémica agresiva

MSBD: Mastocitosis sistémica bien diferenciada

MSI: Mastocitosis sistémica indolente

MSIp+: Mastocitosis sistémica indolente con lesión cutánea

MSIp-: Mastocitosis sistémica indolente sin lesión cutánea

MSS: Mastocitosis sistémica smouldering

MO: Médula ósea

nc-SAMS: Síndrome de activación mastocitaria sistémico no clonal

OMS: Organización Mundial de la Salud

PA: Patrón ascendente de la triptasa sérica basal a los 48 meses de seguimiento

PAF: Factor activador de plaquetas

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

PD: Patrón descendente de la triptasa sérica basal a los 48 meses de seguimiento

PE: Ficoeritrina

PECy7: Ficoeritrina-cianina 7

PerCP: Proteína peridininina-clorofila

PF: Patrón fluctuante de la triptasa sérica basal a los 48 meses de seguimiento

PG: Prostaglandina

PNA: Ácido péptico nucleico

REMA: Red Española de Mastocitosis

RM: Resonancia magnética

ROC: Curvas de características operativas del receptor

SAMS: Síndrome de activación mastocitaria sistémico

SCF: Factor estimulante de colonias

SMD: Síndrome mielodisplásico

TSB: Triptasa sérica basal

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

TAC: Tomografía axial computerizada

TGF: Factor de crecimiento transformante

TNF: Factor de necrosis tumoral

I- INTRODUCCIÓN

A. EL MASTOCITO

En 1877 Paul Ehrlich describió por primera vez el mastocito (MC) al estudiar unas células presentes en el tejido conectivo humano a las que denominó “mastzellen” (célula cebada o “bien alimentada”) por la abundante granulación metacromática en su citoplasma.¹ Este autor propuso que esos gránulos contenían nutrientes para las células del tejido circundante.

Dada la similitud morfológica y funcional entre MC y basófilos, durante mucho tiempo se pensó que los MC procedían de la diferenciación de los basófilos en los tejidos, sin embargo, modelos de diferenciación de MC *in vitro*,² por un lado y, más recientemente, estudios *ex vivo* han demostrado que los MC humanos proceden de células progenitoras CD34+, CD117+, CD14-, CD17- ,^{3;4} FcεRI-,⁵ y CD13+.⁶

Aunque los precursores del MC se encuentran en la MO, se ha demostrado su presencia en sangre periférica y en sangre de cordón umbilical.^{2;3;7-10} Estos precursores comprometidos hacia la línea mastocitaria son muy poco frecuentes en la médula ósea (MO) normal [$0 \pm 0,005\%$ (rango: 0–0,02%)]¹¹ pero pueden ser identificados, a pesar de su baja frecuencia, dentro del compartimento de las células precursoras hematopoyéticas CD34+, como CD117++/HLA-DR-/+.¹¹ La maduración de los precursores del MC empieza en la MO, inducida principalmente por el “stem cell factor” (SCF) y otras citocinas como las interleucinas (IL) IL-3, IL-6, IL-9 e IL-4, aunque finalmente los precursores del MC se desplazan a través de la circulación a los tejidos donde finalizan la maduración. En los tejidos los MC adquieren las características morfológicas, inmunofenotípicas y funcionales específicas según su localización, conservando su capacidad proliferativa.^{12;13}

Los MC se localizan en la piel, sistema respiratorio, tracto genitourinario y gastrointestinal, en la proximidad de los vasos sanguíneos y linfáticos, y alrededor de los nervios periféricos. La localización anatómica de los MC en la piel y las superficies mucosas les sitúa en una posición ideal para su participación en las reacciones alérgicas. Además de en los procesos alérgicos se ha

demostrado un papel relevante de los MC en la respuesta inmunitaria innata y específica, así como en la reparación tisular.^{14;15}

El gen *KIT* codifica un receptor transmembrana con actividad tirosina quinasa¹⁶ que se encuentra tanto en células normales (progenitores hematopoyéticos,¹⁷ MC maduros normales,¹⁸ células de Cajal,¹⁹ melanocitos²⁰ y células germinales)²¹ así como en células neoplásicas de tumores estromales gastrointestinales (GIST),²² seminomas,²³ cáncer de pulmón de células pequeñas,²⁴ cáncer de colon,²⁵ neuroblastomas,²⁶ cáncer de mama,²⁷ leucemia mieloide aguda,²⁸ leucemia linfoblástica aguda T y B,²⁸ mieloma múltiple,²⁹ síndromes mielodisplásicos,³⁰ síndromes mieloproliferativos³¹ y en un solo caso de linfoma no Hodgkin.³²

En humanos, el gen *KIT* se localiza en el cromosoma 4q12,¹⁶ y codifica el receptor de SCF o KIT (CD117) que es una proteína que se compone de los dominios extracelular, transmembrana, yuxtamembrana autoinhibidor y tirosin quinasa, este último formado a su vez por los dominios TK1 y TK2 (loop de activación) -revisado en la referencia 33-. La dimerización del receptor KIT se produce mediante una unión no covalente del SCF al dominio extracelular del mismo^{34;35} seguido de la transfosforilación de los dos residuos tirosina en el dominio yuxtamembrana autoinhibidor,³⁶ lo que condiciona un cambio conformacional con la consiguiente activación del receptor, produciéndose una última transfosforilación en el loop de activación que estabiliza esta forma activa (Figura 1).³⁷ Sin embargo, la activación intrínseca del dominio tirosín quinasa de KIT produce una autofosforilación de otros residuos tirosina y la transducción de la señal. La activación del receptor KIT induce a su vez la activación de múltiples vías de señalización intracelular como la JAK-STAT, RAS o PI3k responsables del crecimiento, proliferación, diferenciación y muerte del MC.³⁸

Los MC producen y almacenan diversas proteasas como son la triptasa, la quimasa y la carboxipeptidasa A; de hecho, se ha establecido un mapa de los MC tisulares según el contenido de dichas proteasas;³⁹⁻⁴² de forma resumida, los MC se pueden clasificar en dos poblaciones mayoritarias: a) MC T que sólo contienen triptasa y se localizan de forma preferente en la mucosa intestinal y el tejido

alveolar; y b) MC TC que contienen triptasa, quimasa y carboxipeptidasa A y se localizan en las submucosas del aparato digestivo y en la piel. Se ha descrito una población minoritaria de MC, presente en algunas submucosas como la intestinal y la nasal, que estaría formada por MC que contienen las proteasas quimasa y catepsina G.⁴³

A.1. MORFOLOGÍA Y CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DEL MASTOCITO NORMAL EN LA MÉDULA ÓSEA

Los MC normales de MO presentan una forma alargada cuando se encuentran en la proximidad de los vasos sanguíneos o trabéculas óseas y redondeada en el resto de localizaciones. El tamaño de la célula oscila entre 6-12 μm presentando un núcleo con morfología redondeada u ovalada y no segmentada, en el que la cromatina está moderadamente condensada, sin nucleolo visible, y el citoplasma está repleto de gránulos que reaccionan de forma metacromática con azul de toluidina (adquieren color morado) lo que facilita su identificación. Esta característica tintorial, la granulación metacromática, está sólo presente en los MC y en los basófilos, células que se pueden distinguir con facilidad mediante sus características morfológicas como puede verse en la Figura 2.

Los MC normales de MO expresan de forma intensa los antígenos CD117, CD203c y el receptor de alta afinidad para la IgE (Fc ϵ RI),⁴⁴⁻⁴⁶ sin embargo, ninguno de ellos es exclusivo de los MC. Inicialmente, los MC eran identificados por su fuerte reactividad con el antígeno CD117 en ausencia de expresión de CD34, CD38 y CD138, para diferenciarlos de las células progenitoras CD34+ y de las células plasmáticas CD117+; por otro lado, la co-expresión de Fc ϵ RI y CD33 junto a la expresión intensa de CD117 permite discriminar los MC de los basófilos.^{45;47;48}

Los MC representan menos del 0,2% del total de las células nucleadas de la MO tanto en controles sanos como en la MO de pacientes con mastocitosis sistémicas.⁴⁷⁻⁴⁹ El porcentaje medio de MC en MO normal determinado por citometría de flujo es de $0,02 \pm 0,02\%$ (rango: 0,001-0,09%), valores que se

encuentran significativamente aumentados en mastocitosis sistémicas, siendo el porcentaje medio de $0,21\% \pm 0,27\%$ (rango: 0,001-1,7%),^{46;47} aunque en muchos casos su porcentaje es incluso más bajo que en la MO de sujetos normales. Por otro lado, en las MO reactivas y en pacientes con otras enfermedades hematológicas diferentes de las mastocitosis como el linfoma linfoplasmocítico, algunos síndromes mielodisplásicos y leucemia linfoide crónica, entre otros, el número de MC está significativamente elevado.^{46;50}

Los MC normales de MO muestran un nivel elevado de autofluorescencia y dispersión de la luz y expresan en la superficie celular diversos antígenos como son el receptor de alta afinidad para la inmunoglobulina E (FcεRI), CD45, CD33 y proteínas relacionadas con el inicio de la respuesta inflamatoria. Otras proteínas presentes en la superficie de los MC normales son CD63, CD203c, CD59, CD32 y HLA-I; así como CD11b, CD11c, CD13, CD18, CD22, beta 2-microglobulina, CD35, CD40, CD61 y CD88 que se expresan en los MC de MO de un porcentaje variable de individuos sanos.⁴⁸⁻⁵³ Sin embargo, los MC normales de MO carecen de la expresión de los antígenos CD123 y CD34 así como de otras moléculas asociadas a diversas líneas celulares hematopoyéticas como el CD19, CD3, CD14 o CD56, incluyendo marcadores relevantes para el diagnóstico de las mastocitosis como la cadena alfa del receptor de la interleucina 2 (CD25).^{47;48}

A.2. FUNCIÓN DEL MASTOCITO

Los MC tienen un papel importante en la respuesta frente a alérgenos, bacterias, virus, hongos y parásitos debido a que se localizan en regiones anatómicas de contacto inicial con los antígenos, como la piel o el tracto gastrointestinal.⁵⁴⁻⁵⁶ En estas localizaciones pueden funcionar como células presentadoras de antígeno, fagocitando bacterias y presentando sus antígenos procesados a los linfocitos T CD4 a través de moléculas MHC-II, o presentando antígenos virales a los linfocitos T CD8 a través de moléculas MHC-I. Además, los MC expresan moléculas coestimuladoras esenciales en la activación de los linfocitos T y producen citoquinas y quimiocinas capaces de inducir la migración de neutrófilos y linfocitos T CD4 y CD8 hacia el lugar de la infección, y de

polarizar los linfocitos Th0 hacia Th1 ó Th2.⁵⁷ Por otro lado, los MC pueden interactuar con los linfocitos B a través de la unión CD40-CD40L⁵⁸ o mediante la producción de citocinas como la IL-4 capaz de inducir el cambio de isotipo de las inmunoglobulinas.⁵⁹

La función inmunológica más conocida de los MC es su intervención en las reacciones alérgicas (revisado en la referencia 60) en las que se produce una alteración en la respuesta inmune fisiológica tipo Th2, esencial en la inmunidad frente a parásitos y diversos alérgenos, predominando la producción de IgE y de citocinas como IL-4, IL-5, IL-10 o IL-13.

Además, los MC también se encuentran implicados en procesos no inmunitarios como la reparación de heridas y la remodelación tisular,⁶⁰ la angiogénesis⁶¹ y, mediante un mecanismo no totalmente conocido, en la remodelación ósea.¹⁵

A.3. MECANISMOS DE ACTIVACIÓN DEL MASTOCITO

El mecanismo principal de la activación del MC ocurre a través del FcεRI presente en la superficie de los MC. Este receptor presenta una estructura tetramérica que contiene una subunidad α con dos dominios extracelulares que se unen al fragmento Fc de la IgE, una cadena β con cuatro dominios transmembrana, y dos cadenas γ unidas entre sí por puentes disulfuro que participan en la transmisión de las señales celulares.⁶² Tras la unión de la IgE al receptor FcεRI, seguido de la interacción de un hapteno o antígeno multivalente con dos moléculas de IgE, se produce la agregación de los receptores lo que induce la activación de múltiples cascadas de señalización, que ponen en marcha una serie de reacciones bioquímicas responsables de la desgranulación y liberación de mediadores.⁶²

Además del mecanismo mediado por IgE, los MC pueden ser activados a través de otros receptores, como son los receptores de IgG (FcγR),⁶³ receptores para moléculas del sistema del complemento, como el C3aR y el C5aR (CD88),⁶⁴ el

receptor de alta afinidad para el factor de crecimiento nervioso (TrkA)⁶⁵ o receptores de tipo “Toll-like” (TLR).⁶⁶

Los MC contienen, o producen después de un estímulo adecuado, un gran número de mediadores biológicamente activos con diferentes efectos potenciales sobre la inflamación, la remodelación de los tejidos o la función de diversos órganos en los que se produce su activación, como puede verse en la Tabla I. De forma resumida, se conoce que la activación del MC produce tres tipos de respuestas biológicas:

- 1) Liberación de manera inmediata (en segundos o minutos) del contenido preformado de los gránulos mediante un proceso regulado de exocitosis. Dichos gránulos contienen, entre otros mediadores: histamina,⁶⁷ triptasa,⁶⁸ quimasa,⁶⁹ carboxipeptidasa A,⁷⁰ proteoglicanos (heparina y sulfato de condroitina),⁷¹ y algunas citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).⁷² Estos mediadores son los responsables de muchos de los síntomas agudos y signos como el edema, broncoconstricción y aumento de la permeabilidad vascular.
- 2) Síntesis y secreción de mediadores de naturaleza lipídica como leucotrienos,^{73;74} prostaglandinas (principalmente PGD₂)⁷⁵ y el factor activador de plaquetas (PAF)⁷⁶ a partir del ácido araquidónico obtenido de los fosfolípidos de la membrana celular del MC. La liberación de estos mediadores tiene lugar entre quince minutos y varias horas tras la activación y es responsable de diversos síntomas que pueden verse resumidos en la Tabla I.
- 3) Síntesis y secreción de citocinas como las interleucinas IL-4, IL-5, IL-6⁷⁷ e IL-13,⁷⁸ el factor de crecimiento tumoral β (TGF- β)⁷⁹ y el TNF- α ,⁷² el cual se produce mayoritariamente por este mecanismo aunque también se encuentra preformado y almacenado en pequeñas cantidades en los gránulos.

B. TRIPTASA SÉRICA

La actividad tripsina-like se describió por primera vez en MC en 1960 empleando técnicas histoenzimáticas.⁸⁰ En el año 1981, se demostró esta misma actividad en los MC humanos de tejido pulmonar,⁸¹ se aisló la enzima con una pureza en torno al 90% y se denominó triptasa. La triptasa (EC 3.4.21.59) es un tetrámero que forma complejos con la heparina,⁸¹ que es producida y almacenada principalmente por los MC, y en una mínima cantidad por los basófilos.⁸² En humanos, la triptasa es codificada por 4 genes^{83;84} y presenta diferentes isoformas: α -triptasa, β -triptasa, δ -triptasa y γ -triptasa, cuyas secuencias se localizan en el cromosoma 16,^{85;86} aunque hasta el momento actual no se ha detectado la δ -triptasa en suero y la γ -triptasa no se libera como forma soluble.⁸⁷ Las isoformas son almacenadas por los MC de diferente manera, la α -triptasa en forma de un tetrámero enzimáticamente inactivo,^{88;89} siendo liberada de forma constitutiva al plasma (los valores séricos en sujetos sanos oscilan entre 1-11,5 ng/mL). La β -triptasa es un tetrámero enzimáticamente activo que forma complejos con la heparina y que es liberada exclusivamente tras la activación de los MC,⁹⁰ como ocurre en las situaciones asociadas con la desgranulación mastocitaria masiva.

Mediante estudios in vitro se ha demostrado que la triptasa participa en diversos mecanismos de la respuesta inflamatoria como la inactivación del fibrinógeno^{91;92} y de algunos neuropéptidos como el péptido intestinal vasoactivo (VIP).^{93;94} También juega un papel en la activación tanto del activador tisular del plasminógeno (tPA)⁹⁵ como de la collagenasa;⁹⁶ y favorece la proliferación de los fibroblastos,⁹⁷ la síntesis de procolágeno,⁹⁸ la quimiotaxis de eosinófilos y neutrófilos,⁹⁹⁻¹⁰¹ el aumento de la permeabilidad vascular¹⁰² y la angiogénesis¹⁰³ entre otras funciones biológicas.

Actualmente se dispone de un inmunoensayo comercial -ImmunoCAP Tryptase (Pharmacia, Uppsala, Sweden/Thermo Fisher Scientific Inc.) capaz de cuantificar la triptasa total, sin distinguir entre formas maduras o precursores ni entre las isoformas α o β en los fluidos biológicos, para lo cual utiliza dos

anticuerpos anti triptasa, el B12 que se emplea para la captura y el G4 para el revelado,⁹² siendo el límite inferior de detección de la técnica de 0,5 ng/mL.

C. MASTOCITOSIS

Las mastocitosis son un grupo de enfermedades poco frecuentes caracterizadas por la presencia de MC anormales en diversos tejidos, como la piel, la MO, el tubo digestivo y el hueso, entre otros. El concepto de MC anormal se basa en características morfológicas (morfología anormal), inmunofenotípicas como es la expresión aberrante del antígeno CD25, y moleculares entre las que se incluyen la presencia de mutaciones del *KIT* o la demostración de su carácter clonal por otros métodos como la prueba de HUMARA (human androgen receptor) que se realiza en mujeres con la mutación de *KIT* negativa y se basa en el análisis de la inactivación de uno de los cromosomas X. Si bien tanto en la clasificación de consenso del año 2001¹⁰⁴ como en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS),^{105;106} se define la enfermedad como una proliferación y acúmulo de MC patológicos en diferentes tejidos, en las fases iniciales de la enfermedad el número de MC es muy bajo y no existe proliferación ni acúmulo de estas células,¹⁰⁷ lo que hace que el diagnóstico de las mastocitosis sistémicas (MS) en los estadios iniciales deba basarse en métodos de alta sensibilidad, como la citometría de flujo multiparamétrica.^{44;45;48-50;53;108} Del mismo modo, como se explicará más adelante, los estudios moleculares sólo son valorables si se llevan a cabo en MC purificados, siendo de especial relevancia cuando se trata de muestras con un número muy bajo de MC.

Las mastocitosis afectan tanto a niños como a adultos, y presentan dos picos de incidencia: el primero durante la primera década de la vida y el segundo entre la cuarta y quinta décadas (revisado en la referencia 109). El carácter clonal de las MS se ha establecido por la demostración de una mutación somática activadora de la molécula *KIT* de los MC que generalmente se caracteriza por una sustitución de un residuo aspártico por una valina en el bucle de activación situado en el codón 816 (Asp816Val).¹¹⁰ Esta mutación favorece la activación y proliferación de MC de manera independiente del SCF (revisado en la referencia 33). Sin embargo, la variabilidad clínica de la enfermedad, desde casos con anafilaxia recurrente a otros asintomáticos, pone en duda que la mutación del

KIT, por sí sola, sea capaz de explicar los síntomas asociados a la liberación de mediadores que se dan en la enfermedad.

Teniendo en cuenta los criterios diagnósticos de la OMS, el estudio de la MO es necesario para establecer el diagnóstico de certeza de las MS así como para definir las diferentes categorías de las mismas. A lo largo de los últimos años se ha avanzado de forma significativa en los métodos diagnósticos más adecuados en diversas áreas como la citología,^{107;111} la inmunohistoquímica,^{112;113} el inmunofenotipo^{44;45;49;50;53;114} y el diagnóstico molecular.^{33;115} Los aspectos básicos asociados a cada uno de los métodos de estudio de la MO en las mastocitosis han sido revisados recientemente por nuestro grupo^{116;117} y pueden verse resumidos en la Tabla II.

C.1. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS MASTOCITOS EN LAS MASTOCITOSIS^{104;106;111}

Como se ha descrito previamente, los MC son células íntimamente relacionadas con el estroma y las células estromales, este hecho resulta crítico para un estudio citológico correcto; así, es necesario que la muestra se obtenga aspirando con fuerza con el fin de conseguir un número suficiente de partículas medulares en las que se localizan las células asociadas al estroma y, por ello, de MC. Por otra parte se requieren técnicas de tinción específicas, como el azul de toluidina a pH ácido, que permiten una fácil identificación de los MC en las extensiones de MO. Para detectar la presencia de agregados de MC se deben analizar las zonas con partículas medulares, mientras que la morfología de los MC ha de estudiarse fuera de las zonas de grumo en las que los MC se encuentran aislados, lo que permite analizar su tamaño, forma, localización y estructura del núcleo, número y distribución de los gránulos, entre otras características.

En las MS los MC son morfológicamente atípicos (Figura 3), concepto que incluye no sólo las formas alargadas, sino también MC poligonales, ovales o redondos con cambios morfológicos como la distribución anormal de la granulación, la fusión granular y la presencia de MC bi o multinucleados, entre otras. Sin embargo, en las llamadas mastocitosis sistémicas bien diferenciadas

(MSBD), una forma poco frecuente de mastocitosis del adulto, los MC presentan unas características morfológicas diferentes que exigen un cuidadoso estudio citológico, ya que su tamaño es mayor que el de los MC normales, el núcleo es redondo y central, el citoplasma está repleto de gránulos y es frecuente la presencia de vacuolas, siendo además típica la tendencia a agregarse, incluso fuera de las zonas de grumo medular formando acúmulos de 2 o más células. Debe destacarse la alta sensibilidad de la citología para detectar los agregados de MC en las partículas medulares teñidas con azul de toluidina; de modo que la presencia de agregados de MC se ha demostrado en el 81% de las MS indolentes (MSI) y en el 100% de las MS agresivas (MSA); es decir, con una frecuencia similar a la ofrecida por la histología siempre que las extensiones de MO tengan una calidad adecuada.¹⁰⁷

C.2. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DE LA MÉDULA ÓSEA EN LAS MASTOCITOSIS SISTÉMICAS

El estudio histológico de la MO requiere el empleo de las tinciones convencionales de Hematoxilina-Eosina (HE) y Giemsa junto con las tinciones inmunohistoquímicas de triptasa, c-kit^{104;106;112;118} y CD25.¹¹³ Por otra parte, un estudio diagnóstico integral requiere tinciones específicas para el estudio de fibrosis colágena y reticulínica.

El análisis histológico permite detectar la presencia de agregados mastocitarios multifocales formados por 15 o más MC en un porcentaje de casos variable en las formas no agresivas que varía entre el 80% en las formas con lesión cutánea y el 67% en las formas sin lesión cutánea.¹¹⁹ Estos agregados están presentes en el 100% de las formas agresivas y las leucemias de mastocitos. En aquellos casos con MC redondeados las técnicas inmunohistoquímicas son de especial importancia en cuánto que permiten demostrar la positividad de dichas células para c-kit y triptasa y, lo que es más relevante, para CD25. Al igual que ocurría con el estudio morfológico, las MSBD presentan unas características morfológicas específicas incluyendo la negatividad de los MC para el antígeno CD25.

Los agregados pueden estar constituídos sólo por MC o bien por MC asociados a fibrosis o a agregados linfoides junto con otras células como eosinófilos y células plasmáticas. La infiltración puede ser sólo de tipo nodular, una mezcla de agregados con un aumento moderado de MC aislados en el intersticio o bien, lo que sucede en las formas agresivas y leucemias de mastocitos, una infiltración difusa. Su localización puede ser paratrabecular, perivascular o intertrabecular, siendo frecuente la presencia de patrones mixtos de infiltración.¹⁰⁷ Desde un punto de vista morfológico, se confirman los hallazgos ya descritos en el apartado anterior sobre la morfología de los MC en los aspirados y la presencia de MC alargados junto con MC redondos en un alto porcentaje de casos o sólo MC redondeados sin formas alargadas, lo que sucede tanto en las MSBD como en formas indolentes o agresivas.¹⁰⁷

C.3. CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LOS MASTOCITOS EN LAS MASTOCITOSIS SISTÉMICAS

El inmunofenotipo de los MC de las MS ha sido ampliamente descrito por nuestro grupo. La característica más llamativa es la expresión con alta intensidad de CD25 por los MC,^{45;48;49} que constituye un marcador casi patognomónico de MS (excepto en la MSBD cuyos MC no expresan CD25),^{45;48;49;53;120;121} y cuya expresión se relaciona con la activación y proliferación celular.¹²²⁻¹²⁴ Nunca se detecta en MC de sujetos sanos o de pacientes con otras enfermedades (hematológicas o no), siendo la única excepción los síndromes hipereosinofílicos FIP1L1/PDGFR (alfa o beta) con MC clonales.¹²⁵ Según los criterios de la OMS, la expresión de CD2 con o sin CD25 por los MC también debe tenerse en cuenta para establecer el diagnóstico de MS, sin embargo, en un porcentaje variable de las MS no se detecta la expresión de CD2,⁵³ o es variable según el fluorocromo que se utilice para su análisis; por este motivo este criterio ha sido recientemente revisado¹²⁶ y su inclusión como criterio diagnóstico de MS debería ser valorado con cautela.

En la mayor parte de las MSI, el inmunofenotipo se caracteriza por la expresión aberrante del antígeno CD25 de forma intensa, con o sin expresión del antígeno CD2⁴⁹ y la sobreexpresión de moléculas de activación como CD69¹²⁷ y CD63;¹²⁸ así como de moléculas relacionadas con el sistema del complemento

como CD11c, CD35,⁴⁴ CD59 y CD88⁵² entre otros; además, los MC de MO de las MS presentan una expresión disminuida de CD117,⁴⁴ junto a un incremento de su autofluorescencia y una mayor dispersión de luz, mientras que el contenido citoplasmático de triptasa total es menor que en los MC normales.

En conjunto, estas alteraciones han permitido describir la existencia de distintos perfiles inmunofenotípicos^{53;129} entre los pacientes con MS que se correlacionan con distintos subtipos moleculares y pronósticos de la enfermedad:

- 1) Fenotipo maduro activado, presente en la mayoría de las MSI con o sin lesión cutánea, que se caracteriza por la expresión aberrante de CD25 y CD2 junto a un aumento en la expresión de proteínas como CD59, CD63, CD69, CD203c, HLA-DR, CD32 y CD123. En conjunto, los pacientes presentan un aumento en el nivel de triptasa sérica, mientras que el contenido de triptasa citoplasmática se encuentra disminuido.
- 2) Fenotipo maduro en reposo, característico de las MSBD, que se caracteriza por la ausencia de expresión de CD25 y CD2, expresión normal de los marcadores de activación y liberación junto con mayor intensidad de expresión de CD117 y de FcεRI. Además, estos MC presentan un mayor contenido citoplásmico de proteasas, principalmente triptasa, carboxipeptidasa y quimasa respecto a los MC normales así como un aumento en las características de dispersión de luz.
- 3) Fenotipo inmaduro asociado a las formas de MS de peor pronóstico, definido por la expresión aberrante de CD25 sin expresión o con expresión débil de CD2, con una menor intensidad de expresión de marcadores asociados a la maduración, como CD117 y FcεRI, un aumento en la expresión de antígenos como CD123, HLA-DQ y HLA-DR y una disminución en las características de dispersión de luz.

C.4. MUTACIONES DEL GEN KIT EN LAS MASTOCITOSIS

Los estudios prospectivos realizados por la Red Española de Mastocitosis (REMA) en adultos utilizando MC purificados de MO han puesto de manifiesto que la mutación D816V de *KIT* está presente en la práctica totalidad de las MS¹¹⁵

con la excepción de las MSBD;¹¹⁵ por el contrario, la frecuencia de dichas mutaciones en las mastocitosis pediátricas es mucho más baja, alrededor del 40%.¹³⁰ Aunque con menor frecuencia, se han descrito otras mutaciones en el exón 17 como son las D816F y E839K,¹³¹ R815K,¹³⁰ I817V¹¹⁵ y N819Y;¹³² además, hay otras variantes con una especial relevancia en las MS asociadas a anafilaxia sin lesión cutánea ya que en un 6% de ellas se detectan otras mutaciones en el exón 17 como son la D816Y,^{115;131} D816H,¹³³ insV815_I816¹¹⁵ y D820G,¹³⁴ lo que pone de manifiesto la necesidad de estudiar esta posibilidad en pacientes con sospecha de MS sin lesión cutánea que no presenten la típica mutación D816V; el no hacerlo supone considerar como falsos negativos para la mutación del *KIT* casos de verdaderas MS, lo que puede tener incluso repercusiones a la hora de decidir tratamientos diana como el imatinib eficaz en casos sin mutación del *KIT* en el exón 17.¹³⁵ Con frecuencia muy baja, se han descrito otras mutaciones del gen *KIT* que afectan a otras zonas de la molécula, como el exón 8 donde se ha identificado la mutación D419,¹³⁶ en el exón 9 se ha detectado la mutación K509I,¹³⁷ en el exón 10 se han descrito las mutaciones F522C¹³⁵ y A533D;¹³⁸ por último en el exón 11 también se han identificado las mutaciones V559I¹³⁹ y V560G,¹⁴⁰ algunas de ellas presentes en mastocitosis familiares.

Dado que las mutaciones en el exón 17 del *KIT* están presentes en la práctica totalidad de las MS del adulto,¹¹⁵ este hallazgo por sí mismo no constituye un hecho diferencial entre las formas agresivas y no agresivas de la enfermedad, ni ofrece una base para determinar la probabilidad de progresión ni tampoco el pronóstico en estas últimas. Por este motivo, la REMA puso en marcha en el año 2004 el estudio sistemático de la mutación del *KIT* en otras células hematopoyéticas purificadas, cuando era positiva en el MC. Los resultados obtenidos han supuesto un enorme avance y han permitido predecir la probabilidad de progresión en las formas no agresivas de las MS.¹⁴¹

En resumen, se detectan tres patrones diferentes en lo que se refiere a la mutación del *KIT*, D816V u otra, en las MS del adulto:

- 1) Pacientes con la mutación de *KIT* restringida a los MC.

- 2) Pacientes con la mutación del *KIT* presente en los MC y en otras líneas mieloides (neutrófilos, monocitos, eosinófilos).
- 3) Pacientes con la mutación del *KIT* presente en los MC, líneas mieloides y linfoides.

Los estudios prospectivos de la REMA en un total de 407 MS del adulto (REMA, datos no publicados) confirman los datos previamente publicados en 113 pacientes.¹¹⁵ De los 407 casos, 382 corresponden a categorías no agresivas de la enfermedad -248 MSI con lesión cutánea (MSIp+), 105 MSI sin lesión cutánea (MSIp-), 1 MSIp+ asociada a otra hemopatía, 1 MSIp- asociada a otra hemopatía y 27 MSBD-. Globalmente, en el 67% de casos la mutación de *KIT* está restringida al mastocito (63% de las MSIp+, 91% de las MSIp-, en la MSIp+ asociada a otra hemopatía y en el 11% de las MSBD); en 62 casos (15%) la mutación se detecta, además, en otras poblaciones celulares mieloides (mutación multilineal mieloide; 23% de las MSIp+, 5% de las MSIp- y en la MSIp- asociada a otra hemopatía); mientras que en 32 casos (8%), 29 MSIp+ y 3 MSIp-, la mutación está también presente en los linfocitos (mutación multilineal mieloide y linfoide). Por el contrario, el 100% (25/25) de los pacientes con categorías agresivas de la enfermedad (23 MSA, de las cuales 3 asocian otra hemopatía, y 2 leucemias de MC -LM-) tienen la mutación de *KIT* multilineal ($p<0,001$), en 9 casos mieloide, y en 16 con afectación mieloide y linfoide. Además, si se analizan las 14 MS en progresión a una forma agresiva, 3 casos corresponden a MSBD en los que no se detecta ninguna mutación a nivel del exón 17 de *KIT*, mientras que los 11 casos restantes son MSI (1 de ellos sin lesión cutánea), todos ellos con la mutación de *KIT* multilineal ($p<0,001$), en 6 casos (55%) mieloide, y en 5 casos (45%) mieloide y linfoide.

En resumen, el patrón de la mutación del *KIT* es relevante no sólo para la clasificación de la enfermedad, también tiene una implicación determinante en el pronóstico a largo plazo de las formas no agresivas,¹⁴¹ y por lo tanto en la decisión de actitudes clínicas a la hora de realizar un seguimiento de la enfermedad más o menos estrecho, y de elegir el tratamiento más conveniente para cada caso.

C.5. UTILIDAD DE LA TRIPTASA SÉRICA EN EL DIAGNÓSTICO DE MASTOCITOSIS

La elevación de la triptasa sérica en las mastocitosis fue descrita hace 25 años^{142;143} en estudios retrospectivos que incluían un pequeño número de casos. En estos trabajos y en otros posteriores, asimismo retrospectivos, se concluyó que los pacientes con mastocitosis cutánea tenían cifras de triptasa similares a los controles sanos, mientras que en los individuos con afectación sistémica los valores de triptasa estaban por encima de los 20 ng/mL.^{143;144} Este criterio se ha mantenido en la clasificación de la OMS, de modo que una cifra de triptasa superior a 20 ng/mL se considera como un criterio menor para el diagnóstico de MS.^{104;106;118}

Según la experiencia de la REMA (2012, datos no publicados), que incluye 407 mastocitosis sistémicas estudiadas, las categorías no agresivas de la enfermedad (382 casos, 94%) tienen una mediana de triptasa sérica basal de 34 ng/mL (rango: 3,9-515 ng/mL), mientras que las categorías agresivas (25 casos, 6%) tienen valores de 301 ng/mL (rango: 104-2.036 ng/mL) - $p < 0,001$ -. Debe destacarse que en las MSI la cifra de triptasa es inferior a 20 ng/mL en el 25% de los casos.¹¹⁷

Los niveles de triptasa sérica total se han relacionado con la carga total de MC presente en el organismo,⁹² así como con el grado de infiltración mastocitaria en la MO de las mastocitosis sistémicas.¹⁴⁴ Además, también se han encontrado diferencias en estos valores según las diferentes categorías de la enfermedad,^{68;145;146} siendo un ejemplo la LM que con frecuencia presenta cifras de triptasa superiores a 1.000 ng/mL,^{120;121} o las mastocitosis cutáneas difusas en niños¹⁴⁷ que asocian una alta carga mastocitaria, cursan con episodios agudos de liberación masiva de mediadores mastocitarios y presentan cifras de triptasa superiores a las que tienen otros tipos de mastocitosis cutáneas.¹⁴⁸ También se ha descrito que en las mastocitosis con esclerosis ósea difusa los valores de la triptasa son superiores en comparación con aquellos sin esclerosis ósea y una carga mastocitaria similar.^{107;141;149}

Sin embargo, se observan elevaciones de la triptasa sérica en otras situaciones patológicas diferentes de las mastocitosis, tales como:

- 1) Episodios anafiláticos, sobre todo en aquellos con compromiso hemodinámico,^{142;150;151} siendo uno de los ejemplos más claros la anafilaxia inducida por veneno de himenóptero.¹⁵²
- 2) En un porcentaje variable de hemopatías mieloides como sucede en alrededor de un 30% de las leucemias mieloides agudas,¹⁵³ en un porcentaje similar de síndromes mielodisplásicos,¹⁵⁴ en casos aislados de leucemia mieloide crónica,¹⁵⁵ y en un pequeño grupo de síndromes hipereosinofílicos en los que se detecta el gen de fusión FIP1L1/PDGFRA junto con la presencia de MC anormales CD25 positivos.¹²⁵
- 3) En pacientes con enfermedades no hematológicas como la urticaria crónica¹⁵⁶ y la insuficiencia renal avanzada.^{157;158}

C.6. UTILIDAD DE LA TRIPTASA SÉRICA EN EL DIAGNÓSTICO DE LOS SÍNDROMES DE ACTIVACIÓN MASTOCITARIA SISTÉMICOS

Los síndromes de activación mastocitaria sistémicos (SAMS) se caracterizan por una activación anormal de los MC, con frecuencia sin desencadenante conocido, ausencia de mastocitosis cutánea,^{119;159;160} síntomas intensos secundarios a la liberación de mediadores mastocitarios, incluyendo la anafilaxia recurrente idiopática,^{119;161-163} y, frecuentemente, elevación de la triptasa sérica basal.^{119;159;160;164} Recientemente los SAMS se han estudiado en profundidad y se han establecido dos tipos según existan MC clonales (c-SAMS) o no (nc-SAMS).^{119;159;160;164} Los estudios prospectivos de la REMA definen los MC clonales como aquellos que expresan CD25 y/o tienen una mutación de *KIT* o un HUMARA positivo; estos estudios han demostrado que, en alrededor del 60% de pacientes con SAMS, se detectan MC clonales y que si se utilizan métodos sensibles y específicos para su diagnóstico la mayoría corresponden a verdaderas MSIp.¹¹⁹ Además, debe destacarse la importancia de la triptasa en los SAMS desencadenados por veneno de himenóptero;^{119;165-169} en ese sentido, se ha descrito que los valores elevados de triptasa (>11,4 ng/mL) se asocian a episodios de anafilaxia más graves,^{167;170;171} así como a una mayor probabilidad de sufrir episodios anafiláticos durante la administración de inmunoterapia específica.¹⁷²

C.7. UTILIDAD DE LA TRIPTASA SÉRICA EN EL SEGUIMIENTO DE LAS MASTOCITOSIS SISTÉMICAS

La mayoría de las MSI tienen una carga mastocitaria y un índice de proliferación bajos, por lo que las cifras de triptasa pueden mantenerse estables durante años o aumentar de forma lenta. Aparte de las formas agresivas de la enfermedad, los valores de triptasa pueden elevarse de forma significativa en las llamadas formas “smouldering” que suelen asociarse con cifras de triptasa superiores a 200 ng/mL,^{104;173} cuando se desarrolla esclerosis ósea difusa¹⁴⁹ o, lógicamente, durante la progresión a una forma agresiva de la enfermedad.¹⁴¹ Asimismo, la respuesta al tratamiento citorreductor o tratamiento dirigido a determinadas dianas celulares (ejemplo: respuesta al imatinib en pacientes sin mutación del *KIT* en el exón 17) se asocia con un descenso de los valores de triptasa en relación con la disminución de la carga mastocitaria total.

D. DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DE LAS MASTOCITOSIS DEL ADULTO

Los criterios diagnósticos de la OMS para establecer el diagnóstico de MS^{106;118} han sido evaluados por la REMA por medio de estudios prospectivos y se han dividido en criterios directos (capaces de detectar una lesión anatómica anormal -los agregados de MC- o de identificar la presencia de MC anormales por su morfología, expresión de moléculas de superficie -CD25- o la presencia de marcadores moleculares anormales -mutaciones del *KIT*-) y criterios indirectos (que permiten sospechar la existencia de una MS).^{107;116;117}

D.1. CRITERIOS DIRECTOS

D.1.1. CRITERIO DIAGNÓSTICO MAYOR

Demostración de agregados multifocales compuestos por más de 15 MC, frecuentemente con morfología alargada, en cortes histológicos y/o en extensiones de MO. Este criterio se puede aplicar a otros tejidos (Figura 4).

D.1.2. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS MENORES

- 1) Presencia de más del 25% de MC morfológicamente atípicos en las extensiones de MO, que contengan partículas medulares y suficiente número de MC para su valoración morfológica (Figuras 3, 4B y 5).
- 2) Expresión del antígeno CD25 en MC de MO con o sin expresión de CD2 (Figura 6).
- 3) Detección de una mutación de *KIT* en el exón 17 u otro diferente (Figura 7).
En las mujeres con mutación de *KIT* negativa, demostración de clonalidad mediante la prueba de HUMARA.

D.2. CRITERIOS INDIRECTOS

- 1) Aumento de la triptasa sérica basal por encima del límite superior del laboratorio de referencia (en nuestro caso >11,5 ng/mL).

- 2) Presencia de mastocitosis cutánea (Figuras 8 y 9) que según la experiencia de la REMA predice la existencia de afectación de MO en más del 95% de los pacientes adultos.

El diagnóstico de las MS debe sospecharse en los individuos que presenten lesiones cutáneas de mastocitosis confirmadas por histología, así como en aquellos sin lesión cutánea pero con síntomas graves secundarios a la activación mastocitaria y a la consiguiente liberación de mediadores biológicamente activos. El diagnóstico de certeza se basa en hallazgos clínicos, bioquímicos, morfológicos, histológicos, inmunofenotípicos y moleculares. Como ya se ha comentado previamente, los MC representan un pequeño porcentaje de las células nucleadas de la MO, salvo en las categorías agresivas de las MS como la MSA y la LM; ya que la demostración de MC anormales en la MO es imprescindible para establecer el carácter sistémico de la enfermedad, resulta necesario emplear de forma rutinaria técnicas capaces de detectar MC aunque estén presentes en frecuencias muy bajas (ejemplo: 10^{-5}).

D.3. CLASIFICACIÓN DE LAS MASTOCITOSIS SEGÚN LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD^{106;118}

Según esta clasificación, las mastocitosis quedan agrupadas en las siguientes categorías:

D.3.1. MASTOCITOSIS CUTÁNEA

- 1) Urticaria pigmentosa.
- 2) Mastocitosis cutánea difusa.
- 3) Mastocitoma cutáneo.

D.3.2. MASTOCITOSIS SISTÉMICA

- 1) Mastocitosis sistémica indolente (con lesión cutánea).
- 2) Mastocitosis aislada de médula ósea.

3) Mastocitosis “smouldering”, definida por presentar al menos 2 criterios “B”.¹⁰⁴

4) Mastocitosis asociada a otra hemopatía clonal.

Síndrome mielodisplásico.

Síndrome mieloproliferativo.

Leucemia mieloide aguda.

Linfoma no Hodgkin.

5) Mastocitosis sistémica agresiva.

6) Leucemia de MC y sarcoma de MC.

D.3.3. MASTOCITOMA EXTRACUTÁNEO

D.4. CRITERIOS DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD PARA ESTABLECER EL CARÁCTER AGRESIVO DE LA ENFERMEDAD^{104-106;118}

La OMS define una serie de criterios que permiten sospechar la presencia de una categoría agresiva de mastocitosis, estos criterios se enumeran a continuación.

D.4.1. CRITERIOS “B”

- 1) Carga mastocitaria elevada, con infiltración de MO superior al 30% y triptasa mayor de 200 ng/mL.
- 2) MO hipercelular o signos de mielodisplasia o alteraciones en los recuentos en sangre periférica sin progresión.
- 3) Hepato y/o esplenomegalia sin alteración funcional. Adenomegalias mayores de 2 cm en ecografía o TAC.

D.4.2. CRITERIOS “C”.

- 1) Alteración de la función de órganos.
- 2) Citopenias (una o más), leucocitos $<1.000/\mu\text{L}$, hemoglobina $<10\text{ g/dL}$, plaquetas $<100.000/\mu\text{L}$.

- 3) Hepatoesplenomegalia con ascitis, función hepática anormal o hipertensión portal. Bazo palpable con hiperesplenismo.
- 4) Malabsorción intestinal con hipoalbuminemia y pérdida de peso.
- 5) Lesión ósea con osteolisis y/u osteoporosis severa con fracturas patológicas.

E. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE LAS DISTINTAS CATEGORÍAS DE MASTOCITOSIS SISTÉMICAS

E.1. MASTOCITOSIS SISTÉMICA INDOLENTE

Es la forma más frecuente de la enfermedad, representa el 79% de las MS seguidas por las REMA.¹¹⁷ Los niveles de triptasa son superiores a 11,5 ng/mL en más del 95% de los casos, y mayores de 20 ng/mL en más del 75% de los casos.¹¹⁷ En el aspirado de MO se detectan MC morfológicamente anormales y la histología permite detectar agregados multifocales de MC en más del 70% de los casos.¹¹⁷ Los MC expresan el antígeno CD25 y, en general, el inmunofenotipo presenta un patrón de MC activado excepto en un alto porcentaje de los casos con mutación multilíneal cuyo patrón es inmaduro.⁵³ En el 98% de los casos se demuestra la presencia de mutación activante del *KIT* en el exon 17, correspondiendo a la mutación D816V en el 100% de ellos.¹¹⁵ El patrón de mutaciones es multilíneal en el 30% de los casos con la correspondiente repercusión en el pronóstico a largo plazo.¹⁴¹ Las MSI no cumplen los criterios “B” ni “C”, sin embargo la clasificación de la OMS incluye una subcategoría dentro de las MSI, llamada “smouldering” que se caracteriza por presentar 2 o más signos “B” pero no signos “C”. La probabilidad de progresión a una forma más agresiva de la enfermedad está directamente relacionada con el patrón de mutaciones del *KIT*; así, en las formas con mutación restringida al MC, la probabilidad de progresión a 30 años es nula, mientras que en las formas multilíneales es del $1,7\% \pm 1,2\%$ a los 10 años, y del $8,4\% \pm 5\%$ a los 20 y 25 años.¹⁴¹

Es característica su heterogeneidad clínica que va desde aquellos casos con anafilaxia recurrente con riesgo vital hasta aquellos casos que sólo presentan síntomas ocasionales tras la exposición a diferentes desencadenantes. Es frecuente la osteoporosis severa y con menor frecuencia otros cambios óseos como son la esclerosis ósea difusa o parcheada.

E.1.1 MASTOCITOSIS SISTÉMICA INDOLENTE SIN LESIÓN CUTÁNEA

Presentan unas particularidades clínicas específicas¹¹⁹ que justifican su inclusión en un grupo aparte. Además de la ausencia de mastocitosis cutánea, en las MSIp- el porcentaje de MC en la MO así como el número de casos con agregados mastocitarios en la MO es menor. Los MC presentan un inmunofenotipo activado en la mayoría de los casos y el patrón de mutaciones es diferente, ya que en un 6% de los casos se detectan mutaciones del *KIT* en el exon 17 diferentes de la típica D816V como se ha expuesto anteriormente. Por este motivo, si no se estudian de forma específica estas mutaciones en casos D816V negativos, se dará un alto porcentaje con mutación falsamente negativa. La segunda diferencia en cuanto al patrón de las mutaciones del *KIT*, es que el porcentaje de casos con mutación multilíneal del *KIT* es mucho menor que en las MSIp+ (6% frente a 23%),¹¹⁹ esta diferencia es aún mayor si se consideran aparte los casos asociados a anafilaxia desencadenada por veneno de himenópteros, en los que no hemos encontrado ningún caso con mutación multilíneal del *KIT* (REMA, datos no publicados). Además, en torno al 4% de las MSIp- tienen valores de triptasa sérica basal <11,5 ng/mL;¹¹⁹ este dato unido al bajo porcentaje de MC presentes en MO hace imposible llegar a un diagnóstico correcto cuando este se basa únicamente en el estudio citológico e histológico de la MO. Por este motivo, las técnicas con alta sensibilidad y especificidad como la citometría de flujo multiparamétrica y el estudio de las mutaciones del *KIT* en células purificadas cobran mayor valor.

De forma resumida, las MSIp- se caracterizan por:¹¹⁹

- 1) Ausencia de mastocitosis cutánea.
- 2) Predominio del género masculino.
- 3) Episodios agudos en los que predominan los síntomas cardiovasculares con menor frecuencia de síntomas como la urticaria, el angioedema y el prurito.
- 4) Menor frecuencia que en la MSIp+, de presentación de síntomas leves secundarios a la liberación de mediadores del MC fuera de los episodios severos agudos.

- 5) Picadura de himenópteros como el desencadenante más frecuente de los episodios agudos.
- 6) Niveles de triptasa sérica basal generalmente más bajos que en la MSIp+.
- 7) Presencia ligeramente mayor de osteopenia y osteoporosis que en la MSIp+, junto con menor frecuencia de esclerosis ósea difusa o parcheada.

E.2. MASTOCITOSIS SISTÉMICA BIEN DIFERENCIADA

Se trata de una forma poco común que corresponde al 6% de las MS del adulto (REMA, datos no publicados). Se caracteriza por su inicio pediátrico en la gran mayoría de los casos, la presencia de lesiones cutáneas nodulares de tamaño variable que afectan fundamentalmente al tronco, cuello y raíces de miembros, así como la presencia de síntomas de liberación similares a los descritos para las MSI. Además, la MO presenta características particulares, los MC son de tamaño aumentado, redondos, con núcleo central, granulación abundante con distribución regular y son frecuentes las vacuolas citoplásmicas (Figura 10). Tanto en las extensiones de MO como en los cortes histológicos es característica la tendencia a la agregación de los MC formando grupos de 2 o más MC. En el estudio histológico se observan agregados de MC generalmente de localización intertrabecular (Figura 11) sin fibrosis. Los MC no expresan el antígeno CD25 (Figura 6) y su inmunofenotipo es maduro, similar al de los MC normales. Las mutaciones del *KIT* en el exón 17 están presentes en una proporción muy baja de casos (29%),¹¹⁵ si bien se han descrito casos aislados con mutaciones a otro nivel del gen *KIT* como la mutación transmembrana Phe522Cys.¹³⁵

E.3. MASTOCITOSIS SISTÉMICA AGRESIVA

Representan el 6% de los casos de MS controlados por la REMA, el 60% con lesión cutánea (REMA, datos no publicados). En la práctica totalidad de los casos con lesión cutánea se identifica una fase previa de MSI; por el contrario, la ausencia de lesión cutánea hace difícil establecer el comienzo de la enfermedad.

Los valores de triptasa suelen ser superiores a 200 ng/mL, y en la MO se identifican MC con morfología anormal generalmente con la coexistencia de MC de forma oval y redondeada, frecuentemente binucleados. En el estudio histológico de la MO se observa una infiltración importante por MC, con 2 patrones histológicos (Figura 12):

- 1) Patrón caracterizado por la presencia de una intensa fibrosis reticulínica.
- 2) Patrón caracterizado por una MO de aspecto “mieloproliferativo” con un porcentaje mayor de MC siendo la fibrosis poco llamativa.

Los MC expresan CD25 y tienen un patrón inmunofenotípico inmaduro.⁵³ Presentan la mutación de *KIT* que habitualmente afecta también a otras líneas hematopoyéticas (mutación multilineal), implicando en el 50% de los casos a las líneas mieloide y linfoide;¹¹⁵ y además, estos patrones de mutación de *KIT* se asocian a un perfil inmunofenotípico específico.¹²⁹

Desde un punto de vista clínico existe una marcada heterogeneidad; la forma más clásica, también conocida como “mastocitosis linfadenopática con eosinofilia”^{173;174} se caracteriza por presentar astenia, pérdida de peso, febrícula y con frecuencia síntomas de liberación como dolor abdominal cólico y diarrea. Se asocia además la presencia de hepatomegalia y esplenomegalia de gran tamaño, adenomegalias abdominales de tamaño superior a 2 cm, y con frecuencia ascitis y derrame pleural. Es habitual la existencia de malabsorción grave con hipoproteinemias e hipoalbuminemia. También son comunes las citopenias secundarias a hiperesplenismo, infiltración medular, fibrosis o a una combinación de todas estas causas. Existen otras formas en las que a pesar de la intensa infiltración mastocitaria de la MO, los signos “C” no están presentes y la clínica es menos agresiva.

E.4. LEUCEMIA DE MASTOCITOS

Es una categoría infrecuente de la enfermedad que se define en la clasificación de la OMS^{104;106;118} por la existencia en el aspirado de MO de un porcentaje de MC igual o superior al 20% del total de las células nucleadas con o

sin MC circulantes en sangre periférica. La morfología de los MC es atípica con formas inmaduras con el núcleo bi o polilobulado.

Sin embargo, el diagnóstico diferencial con las MSA no es fácil en muchas ocasiones, y el criterio numérico (porcentaje de MC en las extensiones de MO) es de difícil interpretación dada la distribución heterogénea de estas células en la MO por su estrecha relación con el estroma medular; así, en una misma extensión de MO pueden coexistir zonas con un 100% de infiltración con otras en las que sólo se observan MC aislados.

La experiencia de la REMA pone de manifiesto que existen varios tipos diferentes de leucemia de mastocitos tanto desde un punto de vista clínico como morfológico. En la forma más común (Figura 13), los MC tienen abundante granulación y el paciente sufre síntomas continuos y graves de liberación de mediadores que con frecuencia obligan a su ingreso en una Unidad de Cuidados Intensivos, con necesidad de recibir tratamiento antimedador a dosis plenas y tratamiento citorreductor urgente. En otros casos, los MC son menos diferenciados, con escasa granulación junto con blastos indiferenciados cuya adscripción a la línea mastocitaria sólo es posible mediante la demostración de un inmunofenotipo aberrante por citometría de flujo.

F. MANIFESTACIONES CLÍNICAS EN LAS MASTOCITOSIS

F.1. SÍNTOMAS SECUNDARIOS A LA LIBERACIÓN DE MEDIADORES MASTOCITARIOS

Tanto la liberación aguda como crónica de los mediadores mastocitarios es capaz de inducir síntomas, sin que exista una relación directa entre la masa mastocitaria total y la aparición e intensidad de los mismos. En la Tabla I se describen los principales mediadores biológicamente activos que libera el MC y los síntomas que son capaces de inducir.

La aparición aguda de síntomas generalmente es producida por diversos desencadenantes; los más característicos son los agentes físicos (como la fricción de las lesiones o el calor), el estrés, los fármacos y el veneno de himenópteros, entre otros (Tabla III).^{109;176}

Entre los síntomas y signos más frecuentes descritos en las MS del adulto se encuentran:

- 1) Prurito sobre las lesiones cutáneas o generalizado, estimado en un 25% de las MSIp- y 79% de las MSIp+ ($p<0,001$),¹¹⁹ así como en el 67% de las MSA, asociando todos los casos lesión cutánea - $p=0,001$ - (REMA, datos no publicados).
- 2) Enrojecimiento (flushing), localizado o generalizado, raras veces grave y acompañado de malestar general, palpitaciones, opresión torácica y cefalea. Este síntoma se ha descrito en el 29% de las MSIp- frente al 51% en las MSIp+ ($p=0,01$).¹¹⁹ Además, según la experiencia de la REMA lo presentan el 43% de las MSA sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los casos con o sin lesión cutánea (REMA, datos no publicados).
- 3) Urticaria (presente en el 26% de las MSI) y/o angioedema.¹⁷⁷
- 4) Dolor abdominal de tipo cólico con o sin diarrea, en el 19% de las MSIp- y el 38% de las MSIp+ ($p=0,01$);¹¹⁹ también presente en el 62% de las MSA, asociando lesión cutánea el 92% de los casos - $p=0,04$ - (REMA, datos no publicados).

- 5) Anafilaxia con riesgo vital, estimada entre el 22%¹⁷⁷ y el 49%¹⁷⁸ de las MSI según diferentes estudios. Según la experiencia de la REMA presentan este cuadro el 100% de las MSIp- y el 25% de las MSIp+;¹¹⁹ mientras que la anafilaxia estimada en las MSA es del 43%, y la mayoría de los pacientes (89%) tienen lesión cutánea $-p>0,5$ - (REMA, datos no publicados).
- 6) Síntomas constitucionales, casi exclusivos de las formas agresivas de la enfermedad,¹⁷⁹ en las series de MSA de la REMA están presentes en el 81% de los casos (datos no publicados).
- 7) Osteoporosis, con una prevalencia global del 18% de las MSI;¹⁴¹ con un mayor porcentaje, aunque no significativo en las formas sin lesión cutánea (un 24% frente a un 16%).¹¹⁹
- 8) Esclerosis ósea parcheada, en el 4% de las MSI¹⁴¹ y el 7% de las MSA. (REMA, datos no publicados)
- 9) Esclerosis ósea difusa, con una prevalencia del 6% en las MSI¹⁴¹ y el 60% de las MSA (REMA, datos no publicados).

F.2. SÍNTOMAS SECUNDARIOS A LA INFILTRACIÓN TISULAR POR MASTOCITOS

Por último, la infiltración tisular sobre todo en las formas agresivas de la enfermedad puede dar lugar a signos y síntomas secundarios como:

- 1) Hepatomegalia, con una prevalencia del 12% en las MSI¹⁴¹ y del 100% en las MSA (REMA datos no publicados).
- 2) Esplenomegalia, presente en el 8% de las MSI¹⁴¹ y 100% de las MSA (REMA datos no publicados).
- 3) Adenopatías, detectadas en el 3% de las MSI¹⁴¹ y el 62% de las MSA (REMA datos no publicados).

Estos signos se pueden acompañar de dolor abdominal, alteraciones en la circulación portal y ascitis.^{104;180-182}

G. TRATAMIENTO DE LOS SÍNTOMAS ASOCIADOS A LA LIBERACIÓN DE MEDIADORES MASTOCITARIOS

El tratamiento de las MSI va dirigido principalmente a controlar los síntomas secundarios a la liberación de mediadores mastocitarios. El tratamiento antimedador se prescribe de acuerdo a la intensidad y severidad de los síntomas, empleando diferentes fármacos según pautas terapéuticas previamente descritas (Tabla IV).^{176;183} De forma resumida, el tratamiento consiste en la administración de los siguientes fármacos:

- 1) Cromoglicato disódico oral, un estabilizador de la membrana del MC, que se emplea en todos los casos con MS que son remitidos a la REMA.
- 2) Antihistamínicos H1 no sedantes, como la cetiricina, levocetiricina, fexofenadina, ebastina, desloratadina, loratadina, entre otros, a demanda para pacientes con síntomas ocasionales, o pautados en los casos con síntomas continuos.
- 3) Antihistamínicos H1 sedantes, como la dexclorfeniramina, que están indicados en los pacientes cuyos síntomas no se controlan de forma adecuada con los tratamientos descritos previamente. Se pueden emplear a demanda para el tratamiento de síntomas agudos de liberación o de forma pautada cuando los síntomas son continuos.
- 4) Antihistamínicos H2 pautados como ranitidina, famotidina, tanto en casos con síntomas digestivos como en pacientes con episodios anafilácticos recidivantes.
- 5) Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) como el ibuprofeno, la aspirina (AAS) o inhibidores selectivos de la ciclooxygenasa 2 (ICOX2). Se prescriben ante cuadros de diarrea con o sin dolor abdominal, que no se controlan con cromoglicato disódico oral, siempre que el paciente tolere estos fármacos.
- 6) Antagonista de leucotrienos (montelukast) en algunos casos seleccionados, dirigido a controlar el dolor abdominal y la diarrea.
- 7) Corticosteroides y adrenalina, se emplean a demanda ante situaciones clínicas concretas que cursan con síntomas severos que conllevan riesgo

vital en muchas ocasiones. Además, en los casos con diarrea refractaria a todo el tratamiento previamente mencionado, se emplean ciclos cortos de corticoesteroides con dosis bajas de prednisona (0,3 mg/Kg/día) o budesonida oral (0,1 mg/Kg/día), en pautas progresivamente descendentes.

- 8) Fármacos ansiolíticos y/o antidepresivos, se prescriben en los casos de anafilaxia inducida por situaciones de estrés, tras realizarse una valoración psiquiátrica y resultando el fármaco de elección variable pero habitualmente del grupo de las benzodiacepinas (BDZ), inhibidores de la recaptación de la serotonina (ISRS) y/o doxepina.

Además, se emplean otros fármacos ante algunas situaciones clínicas específicas:

- 1) Espasmolíticos (butilescopolamina, otilonio, mebeverina) e inhibidores de la motilidad (loperamida), pautados o a demanda, en pacientes con dolor abdominal y/o diarrea refractaria al tratamiento antes descrito.
- 2) Suplementos de calcio y vitamina D, así como bisfosfonatos orales (alendronato, risendronato o ibandronato) desde el momento en que se establece el diagnóstico de osteoporosis, con la excepción de las mujeres premenopáusicas en las que habitualmente no se pautan los bisfosfonatos.
- 3) Los tratamientos citoreductores como la hidroxiurea o la cladribina, los modificadores de la respuesta biológica como el interferón $\alpha 2a$ o $\alpha 2b$, y las terapias dirigidas como los inhibidores de la tirosina cinasa (imatinib, dasatinib, midostaurin) no están en principio indicados en las formas no agresivas de la enfermedad. El interferón $\alpha 2b$ se utiliza en los pacientes con MSI y osteoporosis grave con fracturas patológicas o riesgo de fractura, así como en las MSI en progresión. La cladribina puede ser una opción en casos seleccionados con progresión a categorías agresivas de la enfermedad.

II- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE TRABAJO

A. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Recientemente se ha demostrado que la presencia de la mutación multilíneal de *KIT*, constituye un marcador independiente con capacidad para predecir la progresión de una forma indolente de mastocitosis a una forma agresiva de la enfermedad;¹⁴¹ sin embargo, el estudio de las mutaciones de *KIT* en poblaciones purificadas con máxima pureza no es una técnica disponible en todos los centros, por lo que la identificación de un parámetro, fácilmente determinable en una analítica de sangre, que sea capaz de predecir la presencia de la mutación multilíneal resulta de gran interés.

La determinación de la triptasa sérica basal es un parámetro aceptado y establecido como uno de los criterios diagnósticos de las mastocitosis;^{106;118} sin embargo, hasta el momento no se ha valorado su capacidad para predecir la presencia de la mutación multilíneal en las MSI, así como la progresión a categorías más agresivas de la enfermedad (MSS y/o MSA).

B. OBJETIVOS

B.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la utilidad de la determinación seriada de la triptasa sérica basal en el seguimiento de las MSI del adulto.

B.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1-Analizar la utilidad de los cambios en los valores de la triptasa sérica basal a lo largo de la evolución para predecir la presencia de la mutación multilíneal del *KIT* en las mastocitosis sistémicas indolentes, así como la progresión a categorías más agresivas de la enfermedad.

2-Analizar las características clínicas y evolutivas de las mastocitosis sistémicas indolentes agrupadas según las variaciones de los valores de la triptasa sérica basal a lo largo del seguimiento.

III- MATERIAL Y MÉTODOS

A. TIPO DE ESTUDIO Y SELECCIÓN DE PACIENTES

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo longitudinal, en el que se incluyeron los pacientes adultos remitidos a la REMA entre marzo de 1995 y junio de 2006, que cumplieran los criterios diagnósticos de la OMS/REMA para MSI y que dieron su consentimiento para participar en el estudio. Dentro de este grupo de pacientes se seleccionaron los que cumplieran los siguientes criterios de inclusión.

A.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- 1) Tener un tiempo mínimo de seguimiento de 48 meses a partir del inicio del estudio.
- 2) Tener al menos, 3 determinaciones de triptasa sérica durante ese periodo. Los valores de triptasa obtenidos durante episodios agudos de liberación de mediadores mastocitarios fueron excluidos del análisis.
- 3) Ausencia de esclerosis ósea difusa en la primera determinación de triptasa sérica, es decir, en el momento de entrar en el estudio.
- 4) No haber recibido tratamiento con fármacos citorreductores (como la cladribina o hidroxiurea), inmunomoduladores (interferón α 2b) o fármacos diana (como inhibidores de tirosina cinasa) durante el periodo del estudio. Aquellos casos que recibieron alguno de los tratamientos mencionados a lo largo del estudio fueron excluidos del estudio estadístico a partir de ese momento.
- 5) Haber realizado la determinación de la mutación del *KIT* en todas las líneas hematopoyéticas de MO purificadas según el método que se describe más adelante.

En total se incluyeron 74 pacientes adultos -33 hombres (45%) y 41 mujeres (55%)- con una mediana de edad en el momento de realización del estudio de MO de 41 años (rango: 16-74 años).

B. DIAGNÓSTICO DE LAS MASTOCITOSIS SISTÉMICAS DEL ADULTO

B.1. DATOS CLÍNICOS

En todos los casos, en la primera visita a la REMA se realizó una historia clínica así como una exploración física completa. Se recogieron los datos demográficos, la edad de aparición de las lesiones cutáneas o, en aquellos casos sin afectación de la piel, la fecha de los primeros síntomas asociados a la liberación de mediadores mastocitarios. Se incluyeron además, los síntomas secundarios a la liberación de mediadores presentes en ese momento tales como: prurito, urticaria, angioedema, flushing, dispepsia, dolor abdominal cólico, diarrea y anafilaxia; así como los posibles desencadenantes identificados en las mastocitosis o específicos para cada caso (Tabla III), y los requerimientos de tratamiento antimedador. También se recogieron los datos de los estudios de imagen realizados hasta ese momento. En las posteriores revisiones, cada 6 ó 15 meses (según la asistencia de cada paciente a revisión), se recogió la evolución de los síntomas de liberación antes descritos, del tratamiento antimedador empleado y de las variaciones en los datos proporcionados por las pruebas de imagen.

El tratamiento antimedador fue establecido en cada caso de acuerdo a las pautas previamente descritas, definiéndose el tratamiento antimedador intensivo, como el uso de cromoglicato disódico oral pautado, añadiendo cualquier otro de los fármacos antes descritos de manera pautada con el fin de alcanzar el control de los síntomas secundarios a la liberación de mediadores mastocitarios.

B.2. DATOS DE LABORATORIO

En todos los casos, tanto en la primera consulta como en las posteriores de revisión, se realizó una analítica de rutina que siempre incluyó los siguientes parámetros: hemoglobina, recuento de leucocitos y plaquetas, enzimas hepáticas, creatinina, proteínas totales, albúmina y triptasa para todos los casos, e IgE específica (Immuno CAP Alergenos, Phadia, Uppsala, Sweden/Thermo Fisher

Scientific Inc.) sólo en aquellos casos que tuvieran un desencadenante de síntomas frente al que se pudiera determinar este parámetro. Todos estos datos analíticos fueron recogidos al revisar las historias clínicas de los casos incluidos en el estudio.

Las determinaciones de triptasa sérica basal en el periodo comprendido desde marzo de 1995 hasta marzo de 2007, se llevaron a cabo en el Hospital Ramón y Cajal de Madrid, mientras que a partir de esa fecha y hasta septiembre de 2012 se realizaron en el Hospital Virgen del Valle de Toledo. Todas las muestras de sangre fueron analizadas mediante la técnica de fluoroinmunoanálisis (FIA) comercializada: ImmunoCAP Tryptase (Pharmacia, Uppsala, Sweden/ Thermo Fisher Scientific Inc.), que emplea los anticuerpos monoclonales B12 para realizar la captura y G4 para la detección de las isoformas de triptasa α y β , y en todos los casos se consideró el punto de corte de 11,5 ng/mL como límite superior de la normalidad.

B.3. ESTUDIOS DE IMAGEN

Estos estudios se solicitaron en la primera consulta en la REMA, y posteriormente a intervalos aproximados de 2 años, salvo en aquellos casos con datos sugerentes de progresión en los que se llevaron a cabo con un intervalo de tiempo inferior. Los resultados de estas pruebas también fueron registrados al revisar las historias clínicas.

- 1) Ecografía (ECO) abdominal y, en algunos casos, tomografía axial computerizada -TAC- para valorar la presencia de hepatomegalia (hígado con eje longitudinal >15,5 cm), esplenomegalia (bazo con eje longitudinal >13 cm por ecografía, y >10 cm por TAC) y adenopatías ≥ 2 cm.
- 2) Densitometría ósea para valorar la presencia de osteoporosis conforme a los criterios previamente establecidos (t score $\leq -2,5$).^{184;185}
- 3) Otros estudios para valorar la patología ósea como la radiología ósea simple, y en algunos casos además TAC o resonancia magnética (RM) con el fin de objetivar la presencia de esclerosis ósea difusa o parcheada.

B.4. ESTUDIO DE MÉDULA ÓSEA.

El aspirado y la biopsia de MO se realizaron con un trócar de 8G mediante punción en cresta iliaca posterior, 1 hora después de premedicar al paciente con dexclorfeniramina (6 mg) y ranitidina (150 mg) vía oral, y empleando un anestésico local tipo amida (habitualmente mepivacaína) minutos antes de la punción. En dos pacientes con historia previa de anafilaxia inducida por situaciones de estrés, el estudio se realizó en la Unidad de Cuidados Intensivos empleando la misma premedicación junto con propofol IV. Se realizó un aspirado de al menos 15 ó 20 ml en tubos de EDTA-K3 que fueron numerados según el orden de extracción, y con el que se realizaron entre 8 y 10 extensiones del grumo medular. Además, en todos los casos se extrajo un cilindro de MO >2 cm de longitud que se fijó inmediatamente en formol hasta su procesamiento.

B.4.1. ESTUDIO CITOLÓGICO

Para el estudio de las extensiones de la MO se emplearon las tinciones de azul de toluidina y MGG; cuando la extensión era adecuada, lo que sucedió en el 95% de los casos, se recogieron los siguientes parámetros:

- 1) Valoración cuantitativa de la celularidad global.
- 2) Morfología de los MC evaluada según criterios previamente descritos,¹¹¹ así como las modificaciones establecidas por la REMA.¹⁰⁷
- 3) Presencia o ausencia de agregados mastocitarios.
- 4) Alteraciones morfológicas de otras células hematopoyéticas o presencia de enfermedades asociadas.

B.4.2. ESTUDIO HISTOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO

Para el estudio de la biopsia de la MO se emplearon las tinciones de HE, técnica para fibras de reticulina y colágeno. Asimismo, se usaron tinciones inmunohistoquímicas para triptasa y c-kit (Figuras 11 y 12).^{112;186} Se valoraron los siguientes parámetros:

- 1) Celularidad global: disminuída, normal o aumentada.

- 2) Presencia o no de agregados de MC.
- 3) Infiltración de MO superior al 30%.

B.4.3. INMUNOFENOTIPO

El inmunofenotipaje de las muestras de aspirado de MO se realizó mediante citometría de flujo multiparamétrica según criterios y directrices previamente definidos por la REMA.^{45;47;49} Todas las muestras fueron procesadas inmediatamente, siempre en las primeras 24 horas tras su extracción, mediante técnicas de inmunofluorescencia directa utilizando combinaciones de 4 fluorocromos: isotiocianato de fluoresceína (FITC)/ficoeritrina (PE)/proteína peridinin-clorofila (PerCP)/aloficocianina (APC); u 8 fluorocromos: Pacific Blue (PB)/Pacific Orange (PO)/FITC/PE/PerCP-Cy5.5/ficoeritrina-cianina 7 (PECy7)/APC/ aloficocianina H7 (APC-H7).

Las muestras previas a 2009 fueron adquiridas en un citómetro FACSort (BD Biosciences) con el programa Cell Quest Pro (BD Biosciences), y las posteriores a 2009 fueron adquiridas en un citómetro FACS Canto II (BD Biosciences) con el programa FACS Diva. En ambos casos se utilizó el método descrito de adquisición en dos pasos,^{45;47} y se analizaron con el programa Paint a Gate (BD Biosciences) o INFINICYT (Cytognos SL, Salamanca, Spain).

La combinación mínima de anticuerpos monoclonales fue: CD2-FITC /CD25-PE/CD45-PerCP/CD117-APC, y FcεRI-FITC/CD34-PE/CD45-PerCP/CD117-APC para cuatro colores, y, CD2-PB/CD45-PO/FcεRI-FITC/CD25-PE/CD34-PerCP-Cy5.5/CD117-PECy7/CD203c-APC/CD69-APCH7, para ocho colores. Se utilizaron controles isotípicos para determinar la autofluorescencia de los mastocitos y evaluar la positividad o negatividad de cada uno de los marcadores analizados.⁵⁰ En aquellos casos en los que la tinción previa del grumo de la MO con azul de toluidina indicó la presencia de un porcentaje muy bajo de MC, estas combinaciones se marcaron por duplicado o triplicado con el fin de analizar un mayor número de MC e identificarlos de forma más precisa.

Los MC de MO fueron identificados gracias a sus propiedades únicas de dispersión de luz, la expresión intensa del antígeno CD117 y débil de CD45.⁴⁷

Para determinar la positividad o negatividad de cada uno de los marcadores en los MC, se comparó la intensidad media de fluorescencia (IMF) de los controles de isotipo con la IMF de cada marcador; de este modo, se consideró como positivo un marcador cuando la IMF era superior a la IMF +3 desviaciones estándar del control de isotipo correspondiente. Los aspectos técnicos junto a los parámetros críticos en relación a la identificación, enumeración e inmunofenotipaje de los MC de MO han sido ampliamente estudiados y revisados por la REMA y descritos previamente.^{47;48;50;108}

B.4.4. SEPARACIÓN DE MASTOCITOS Y OTRAS CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS DE LA MÉDULA ÓSEA

Los MC y otras poblaciones celulares de las muestras de MO fueron purificados mediante el citómetro-separador celular FACSaria (BD Biosciences). Las muestras fueron marcadas con una combinación de 4-6 anticuerpos monoclonales (AcMo) conjugados con distintos fluorocromos: FITC/PE/PerCP/PECy7/APC/APCH7, según los protocolos previamente descritos.¹⁸⁷ Las combinaciones de AcMo utilizadas fueron: CD117⁺⁺/CD34⁻/CD45⁺/CD14⁻, para MC; CD45⁺⁺/CD14⁺⁺/HLA-DR⁺⁺/CD34⁻/CD117⁻, para monocitos; CD45⁺/CD34⁻/CD117⁻/CD14⁻/granularidad (SSC) alta, para granulocitos neutrófilos; CD45⁺/CD34⁻/CD117⁻/CD14⁻/SIGLEC8⁺⁺, para granulocitos eosinófilos; SSC baja/intermedia/CD34⁺/CD45⁺/CD14⁻/CD117^{-/+}, para células progenitoras CD34⁺; y SSC baja/CD45⁺⁺/CD14⁻/CD117⁻/CD34⁻, para linfocitos.

La pureza de las poblaciones purificadas, analizada mediante citometría de flujo, fue siempre mayor del 95% con una contaminación <0,01%.¹¹⁵ Una vez purificadas, las poblaciones celulares fueron congeladas inmediatamente para realizar la posterior extracción del ADN de cada una de ellas y el análisis de la presencia de la mutación del *KIT*.

B.4.5. BIOLOGÍA MOLECULAR

A partir de las poblaciones de células purificadas de MO, se extrajo el ácido desoxirribonucleico genómico (gADN) utilizando uno de los kits QIAamp “mini” o

“micro” (QIAGEN, Valencia, CA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para las muestras que tuvieron menos de 10^4 células purificadas por FACS, se utilizó el kit “REDExtract-N-Amp blood polymerase chain reaction (PCR)” (Sigma-Aldrich, St Louis, MO), de acuerdo con las instrucciones del fabricante, utilizando los cebadores 5'-TTC TTT TCT CCT CCAACC TA-3' y 5'-TGC AAATTT TGC TGA AGT AT-3' (Isogen Biosciences, Maarsen, Holanda). Una vez que se obtuvo el gADN, se detectó la mutación D816V del gen *KIT* mediante la técnica de PCR “peptide nucleic acid (PNA)-mediated PCR Clamping” (LightCycler thermocycler, versión de software 3.5; Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) con el kit de sondas “DNAMaster Hybridization” (Roche Diagnostics) tal y como se ha descrito previamente.¹³⁰ Se emplearon las sondas de hibridación y los oligómeros de PNA comercializados TIB MOLBIOL (Berlin, Alemania) y Applied Biosystems (Foster City, CA), respectivamente. La presencia de la mutación D816V del gen *KIT* se confirmó por secuenciación de los productos de PCR en ambas direcciones, utilizando los cebadores 5'-CAG CCA GAA ATA TCC TCC TTA CT-3' Y 5'-TTG CAG GAC TGT CAA GCA GAG-3' (Isogen Life Sciences) y el método “Dye Deoxy Terminator” en un analizador genético ABI Prism 3100 (Applied Biosystems, Foster City, CA).

C. VARIABLES DEL ESTUDIO

Tras revisar la historia clínica de cada caso se recogieron los siguientes datos epidemiológicos, clínicos, analíticos, terapéuticos y evolutivos.

C.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

1) Género.

2) Edad.

C.2. DATOS CLÍNICOS

1) Fecha del inicio de la enfermedad. En los pacientes con episodios anafilácticos, sin mastocitosis cutánea, se consideró como fecha de inicio de la enfermedad la coincidente con la primera anafilaxia; mientras que en los casos con lesión cutánea se consideró el momento de aparición de las lesiones como la fecha de inicio de la enfermedad.

2) Presencia de mastocitosis cutánea confirmada por histología.¹⁰⁶

3) Presencia de síntomas secundarios a la liberación de mediadores mastocitarios: prurito, urticaria, angioedema, flushing, síntomas pépticos, dolor abdominal cólico, diarrea, y anafilaxia.

4) Desencadenantes de los síntomas, considerando tanto los posibles desencadenantes habituales en mastocitosis como cualquier otro factor específico para cada caso.

C.3. VARIABLES DIAGNÓSTICAS

1) Estudio morfológico del aspirado de MO, incluyendo la fecha del estudio, valoración de la morfología de los MC, presencia de agregados mastocitarios y estudio morfológico de las demás series hematopoyéticas con el fin de descartar enfermedades asociadas.

- 2) Estudio histológico de la MO: fecha del estudio, análisis de la celularidad global, presencia de agregados multifocales de MC, valoración cuantitativa del grado de infiltración (mayor o menor del 30%).
- 3) Estudio inmunofenotípico de la MO: porcentaje de MC, expresión aberrante de CD25, coexistencia de una doble población de MC (MC CD25 positivos junto con MC CD25 negativos).
- 4) Patrón de las mutaciones del *KIT*: restringido al MC o multilineal.
- 5) Datos analíticos, incluyendo la fecha del estudio, valores de hemoglobina, leucocitos, plaquetas, enzimas hepáticas, creatinina, proteínas totales, albúmina y triptasa para todos los casos, e IgE específica sólo en aquellos casos que tuvieran un desencadenante de síntomas frente al que se pudiera determinar este parámetro.
- 6) Presencia de hepatomegalia, esplenomegalia, adenopatías >2 cm, hipertensión portal o ascitis por estudios de imagen.
- 7) Estudio óseo: presencia de osteoporosis, esclerosis ósea difusa, esclerosis ósea parcheada, osteolisis o fracturas patológicas.

C.4. VARIABLES RELACIONADAS CON EL TRATAMIENTO

- 1) Tratamiento antimedador empleado: cromoglicato disódico oral, antihistamínicos H1 y H2, montelukast, corticosteroides y adrenalina.
- 2) Tratamiento con fármacos ansiolíticos y/o antidepresivos (BDZ y/o ISRS).
- 3) Suplementos de calcio, vitamina D y bisfosfonatos.
- 4) Tratamiento con hidroxiurea, interferón $\alpha 2b$, o cladribina.

C.5. VARIABLES EVOLUTIVAS A LOS 48 MESES Y AL FINAL DEL SEGUIMIENTO

- 1) Variaciones en los valores de triptasa con respecto a la cifra basal calculados según la pendiente de evolución de la triptasa estimada por regresión lineal.
- 2) Presencia de cambios en los síntomas clínicos previamente especificados.

- 3) Registro de las modificaciones en el tratamiento antimedador empleado en relación con el tratamiento inicial.
- 4) Registro de cambios en datos analíticos como el recuento de leucocitos, plaquetas y hemoglobina, enzimas hepáticas, creatinina, proteínas totales, albúmina y triptasa para todos los casos, e IgE específicas.
- 5) Variaciones en la presencia de hepatomegalia, esplenomegalia o adenopatías >2cm palpables o por estudios de imagen.
- 6) Aparición o modificaciones en la presencia de osteoporosis, esclerosis ósea difusa, esclerosis ósea parcheada, osteolisis o fracturas patológicas.

D. PROGRESIÓN DE LAS MASTOCITOSIS SISTÉMICAS INDOLENTES

La progresión se define por la evolución de una forma indolente de la enfermedad a una categoría más agresiva según los criterios de la OMS anteriormente mencionados,^{106;118} considerando por tanto la evolución a mastocitosis sistémicas smouldering (MSS), agresivas (MSA) ó leucemias de mastocitos (LM).

E. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Se calculó la mediana y rango para las variables continuas, mientras que para las variables categóricas se determinó la frecuencia absoluta y relativa. Para comparar los datos entre grupos se emplearon las pruebas de Kruskal Wallis y Mann-Whitney con las variables continuas, y la χ^2 o el test exacto de Fisher con las variables categóricas, según procediese. Los análisis de correlación se calcularon mediante regresión lineal. La identificación de la mejor combinación de factores independientes asociados con cada grupo de pacientes, se llevó a cabo mediante regresión logística, incluyéndose en el análisis multivariado sólo las variables que resultaron estadísticamente significativas en el análisis univariado. Las curvas de supervivencia se estimaron mediante el método de Kaplan-Meier, y se compararon con la prueba log-rank. Para todas las pruebas estadísticas se consideraron como valores significativos aquellos con $p < 0,05$. Para realizar los análisis estadísticos se emplearon los paquetes estadísticos SPSS 17.0 (SPSS, Chicago, Ill), Excel 2010 (Microsoft) y MatLab R2010a (The MathWorks, Inc.).

Se utilizó el análisis de conglomerados de medias para agrupar los casos que presentaban un patrón similar de evolución de la triptasa basal durante los primeros 48 meses de seguimiento. El análisis de conglomerados de K medias es un método de agrupación de casos que se basa en las distancias existentes entre ellos en un conjunto de variables, de modo que las observaciones dentro de un mismo conglomerado son lo más cercanas posible entre sí, así como distantes de las observaciones de los otros conglomerados. Se comenzó seleccionando los casos más distantes entre sí, se determinó el número de conglomerados a obtener, y se asignó cada caso al centro más próximo, actualizando el valor de los centros según se incorporaron nuevos casos. Una vez que todos los casos fueron asignados a uno de los conglomerados se calcularon los centroides finales de esos conglomerados. Empleando este método, y tras realizar una interpolación para que todos los pacientes tuvieran valores de triptasa estimados en los mismos momentos durante los primeros 48 meses de seguimiento, se establecieron 3 grupos de pacientes según el patrón de evolución de los valores de triptasa sérica basal en este periodo:

- 1) Patrón descendente (PD): Descenso de los niveles de triptasa sérica basal con respecto al valor obtenido al inicio del estudio.
- 2) Patrón fluctuante (PF): Fluctuación de los niveles de triptasa sérica basal, caracterizado por un aumento seguido de un descenso cíclico o viceversa.
- 3) Patrón ascendente (PA): Aumento continuo y progresivo, o aumento inicial con estabilización posterior de los niveles de triptasa sérica basal con respecto al valor obtenido al inicio del estudio.

Por otro lado, se estimó la tendencia de evolución de los valores de triptasa sérica basal por regresión lineal ($y=ax+b$), de modo que se estableció la relación entre los niveles de triptasa (y) y el tiempo de seguimiento de la enfermedad (x), y se calculó la pendiente de la recta (a). Una pendiente de triptasa igual a 0, positiva o negativa indicaban una evolución estable, ascendente o descendente, respectivamente, de los valores de la triptasa sérica basal.

Por último, se emplearon las curvas de características operativas del receptor (ROC) para obtener los puntos de corte óptimos de los valores de la pendiente de la triptasa capaces de predecir la presencia de la mutación de *KIT* multilíneal y de la progresión.

IV- RESULTADOS

A. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS Y CLÍNICAS DE LOS PACIENTES AL INICIO DEL ESTUDIO

Se incluyeron 74 pacientes, 33 hombres (45%) y 41 mujeres (55%). La mediana de edad al inicio de la enfermedad para el grupo total fue de 28 años (rango: 0-72 años), siendo esta mediana de 27 años (rango: 0-66 años) para los hombres y de 31 años (12-72 años) para las mujeres ($p>0,05$). La mediana de edad tanto del momento de la primera determinación de triptasa sérica basal como del estudio de médula ósea que confirmó el diagnóstico de MSI, fue de 41 años (rango: 15-72 años y 16-74 años, respectivamente). En 55 casos (74%) la mutación D816V de *KIT* se detectó únicamente en los MC; por el contrario en 16 casos (22%), la mutación afectaba además a las líneas mieloides, y en 3 pacientes (4%) también a la línea linfoide.

Sesenta y siete de los 74 casos incluidos en el estudio (91%) tenían afectación de la piel (MSIp+) que estaba ausente (MSIp-) en los 7 pacientes restantes (9%). La frecuencia de los síntomas asociados a la liberación de mediadores mastocitarios en el momento de inclusión en el estudio fue del 64% para el prurito, 47% para el flushing, 36% para el dolor abdominal, 30% para la diarrea, 23% para la anafilaxia, 16% para la dispepsia y 2% para la urticaria; sin embargo, ninguno de los pacientes sufrió episodios de angioedema. Los siguientes síntomas se presentaron con mayor frecuencia en las MSp+ que en las MSp-: el prurito (69% frente a 14%, $p=0,008$), el flushing (49% frente a 29%, $p>0,05$) y el dolor abdominal (37% frente a 29%, $p>0,05$). Diecisiete de los 74 casos (23%) presentaron episodios anafilácticos antes de ser incluidos en este estudio; la anafilaxia fue más frecuente en los pacientes diagnosticados de MSp- (7 de 7 -100%- frente a 10 de 67 -15%-; $p<0,001$). De los 17 casos con anafilaxia, 4 de ellos (23%) sufrieron 2 episodios y 3 casos (12%) 3 episodios. Al comparar la presencia de síntomas entre los casos con la mutación de *KIT* multilíneal frente a los casos con la mutación de *KIT* restringida al MC, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla VI).

En la Tabla VII se recogen los desencadenantes que se identificaron para los síntomas secundarios a la liberación de mediadores mastocitarios. En relación

con los fármacos, la codeína fue el desencadenante de un episodio de urticaria, y la AAS de un episodio de flushing. Además, los AINEs desencadenaron episodios de anafilaxia en 4 pacientes y las aminopenicilinas en otros 3 casos. De los 4 pacientes que presentaron episodios anafilácticos tras la picadura de himenóptero, en 2 de ellos se demostró un mecanismo de hipersensibilidad inmediata frente al veneno de *Véspula spp* y en otro frente al de *Apis mellifera*; en el paciente restante tanto la IgE específica como las pruebas cutáneas frente al veneno de himenópteros fueron negativas.

Antes de ser referidos a nuestro centro, 19 pacientes (26%) fueron tratados con antihistamínicos H1 y 12 casos (16%) con cromoglicato disódico oral. Ninguno recibió tratamiento antimedador intensivo y 6 pacientes (8%) precisaron tratamiento con adrenalina por presentar episodios anafilácticos (Tabla VIII). Debido a la presencia de osteoporosis, 7 pacientes (9%) -3 mujeres y 4 hombres-, con una mediana de edad de 47 años (rango: 45-73 años), recibieron suplementos de calcio, vitamina D y bifosfonatos.

Al inicio del estudio sólo un paciente tenía esplenomegalia detectada por ECO abdominal y en ningún caso se detectó hepatomegalia ni adenomegalias.

B. DIAGNÓSTICO DE MASTOCITOSIS SISTÉMICA INDOLENTE

La mediana del tiempo transcurrido desde el inicio de la enfermedad hasta el primer estudio de MO realizado en la REMA fue de 75 meses (rango: 0-463 meses) y hasta la primera determinación de la triptasa sérica basal también de 75 meses (rango: 0-91 meses).

En el estudio de MO se evidenció un aumento de la celularidad global en 7 pacientes (13%) con la mutación del *KIT* restringida al MC y en 4 casos (21%) con la mutación multilíneal; en 59 casos (80%) la celularidad global fue normal y en los 4 restantes no fue valorable debido a la mala calidad de la muestra. Se identificaron MC con morfología anormal en 66 casos (76%), en concreto en el 75% de las MSIp+, 86% de las MSIp-, 78% de los casos con la mutación de *KIT* restringida al MC y 68% de los casos con la mutación de *KIT* multilíneal. Se detectaron agregados multifocales de MC en 59 casos (80%), de ellos 54 pacientes (92%) tenían lesión cutánea (MSIp+); los agregados mastocitarios fueron más frecuentes en los casos con mutación de *KIT* multilíneal que en los que dicha mutación estaba restringida al MC - 89% frente a 76% ($p>0,05$)-.

En ningún caso el porcentaje de infiltración mastocitaria de la MO fue superior al 30%. El porcentaje de MC en la MO para el grupo total, analizado mediante citometría de flujo, fue de 0,1% (rango: 0,001%-1,7%), siendo mayor en los pacientes con lesión cutánea que en los casos sin ella: 0,1% (0,001%-1,7%) frente a 0,066% (0,03%-0,26%) - $p>0,05$ -; así como en los casos con la mutación del *KIT* restringida al MC comparado con los pacientes con mutación multilíneal: 0,1% (0,001%-0,7%) frente a 0,08% (0,005%-1,7%) - $p>0,05$ -.

En todos los casos se demostró un inmunofenotipo patológico caracterizado por la expresión aberrante del antígeno CD25. En 15 casos (20%), el análisis inmunofenotípico puso de manifiesto la coexistencia de una población de mastocitos normales (CD25 negativos) junto a otra compuesta por MC anormales (CD25 positivos), encontrándose este hallazgo en el 19% de las MSIp+, 29% de las MSIp-, 25% de los casos con la mutación de *KIT* restringida al MC y 5% de los casos con la mutación de *KIT* multilíneal. Al analizar los 59 casos en los que el

estudio de MO se realizó como máximo en los 6 meses posteriores a la fecha de la determinación de la primera triptasa sérica basal, se encontró una correlación directa $r = 0,4$ entre ésta y el porcentaje de MC ($p = 0,003$).

En 20 pacientes, todos ellos del grupo MSIp+, de los que 9 (45%) tenían la mutación de *KIT* multilíneal, se realizó un segundo estudio de MO, tras una mediana de tiempo de seguimiento de 85 meses (rango: 41-154 meses) para los casos con la mutación de *KIT* restringida al MC, y de 83 meses (rango: 31-136 meses) en los pacientes con la mutación multilíneal ($p > 0,05$).

La mediana del porcentaje de MC en la MO analizado mediante citometría de flujo, fue del 0,1% (rango: 0,01-15,2%), sin que se encontrasen diferencias significativas ($p > 0,05$) al analizar este porcentaje en el grupo con la mutación de *KIT* restringida al MC 0,03% (rango: 0,01-0,29), frente al grupo con la mutación multilíneal 0,14% (rango: 0,02-15,2%); sin embargo, el aumento en el porcentaje de MC en la MO se produjo en 5 casos (56%) con la mutación de *KIT* multilíneal y sólo en 1 paciente (9%) con la mutación restringida al MC ($p = 0,05$).

En 13 de estos casos (65%) la pendiente de triptasa fue superior a 0,15 a los 48 meses de seguimiento siendo $< 0,15$ en los 7 restantes sin que hubiera diferencias en la mediana de tiempo transcurrido entre el primer y el segundo estudio medular que fue de 85 meses (31-154 meses) en el grupo con pendiente $\geq 0,15$ frente a 85 meses (rango: 50-136 meses) para el grupo con la pendiente de triptasa $< 0,15$ ($p > 0,05$). La mediana del porcentaje de MC de MO analizado por citometría fue de 0,02% (rango: 0,01%-0,14%) para el grupo con pendiente de triptasa $< 0,15$ frente a 0,13% (rango: 0,018 -15,2%) para el grupo con pendiente de triptasa $\geq 0,15$ ($p = 0,04$). Globalmente se produjo un aumento en el porcentaje de MC de MO en 1 caso (14%) con pendiente de triptasa $< 0,15$ y en 5 casos (38%) con pendiente de la triptasa $\geq 0,15$ ($p > 0,05$).

En resumen, en todos los pacientes se pudo establecer de forma inequívoca el diagnóstico de MSI según los criterios previamente descritos por la OMS y modificados por la REMA, según se ha especificado en el apartado "Métodos". En relación con los criterios de la OMS, 23 casos (31%) cumplían el criterio mayor y

los 4 menores, 19 casos (26%) el criterio mayor y 3 criterios menores, 17 casos (23%) el criterio mayor y 2 criterios menores, 4 casos (5%) los 4 criterios menores y 11 casos (15%) 3 criterios menores (Tabla IX). En ninguno de los pacientes de este estudio se identificó otra enfermedad hematológica asociada tras el estudio integral de la MO.

C. EVOLUCIÓN DE LOS VALORES DE LA TRIPTASA SÉRICA BASAL

La mediana de la triptasa basal para la serie total de casos al inicio del estudio fue de 27,5 ng/mL (rango: 2,5-199 ng/mL). Al finalizar el estudio tras una mediana de tiempo de seguimiento de 113 meses (rango: 51-193 meses), el número total de determinaciones de triptasa fue de 787, la mediana fue de 9 determinaciones por paciente (rango: 3-24); la mediana de la triptasa al finalizar el estudio fue de 34 ng/mL (rango: 7-1.300 ng/mL).

La mediana de triptasa sérica basal fue significativamente mayor en los pacientes con mutación multilíneal de *KIT* que en aquellos con la mutación restringida al MC, tanto en la primera determinación - 46,3 (rango: 8,3-148) frente a 23,9 (rango: 2,5-199) ng/mL-, como al final del estudio - 88,2 (rango: 15,7-1300) frente a 26,3 (7-216) ng/mL - $p=0,014$ y $p<0,001$, respectivamente-, sin que se encontrasen diferencias significativas en las medianas de tiempo desde el inicio de la enfermedad hasta la primera determinación de triptasa, 70 meses (rango: 0-254) frente a 74 meses (rango: 1-463) - $p>0,05$ -, ni en el seguimiento total, 124 meses (rango: 55-191) frente a 112 meses (rango: 51-193) - $p>0,05$ - al comparar el grupo con la mutación multilíneal frente al grupo con la mutación restringida al MC.

C.1. PATRONES DE EVOLUCIÓN DE LA PENDIENTE DE LA TRIPTASA SÉRICA BASAL EN LOS PRIMEROS 48 MESES DE SEGUIMIENTO

La variación de la pendiente de la triptasa para el conjunto de las determinaciones fue significativamente mayor en los casos con la mutación multilíneal que en aquellos con la mutación restringida al mastocito a los 48 meses de seguimiento [0,31 (rango: -0,44-12,44) frente a 0,04 (rango: -2-1,93); $p=0,002$] y al final del estudio [0,26 (rango: -0,82-21,42) frente a 0,05 (rango: -0,75 - 0,83); $p<0,001$]. Además, según el patrón de evolución de los niveles de triptasa en los primeros 48 meses de seguimiento, en 16 casos (22%) se produjo una disminución (patrón descendente) desde el inicio del estudio; 10 casos (13%) tuvieron una evolución fluctuante (patrón fluctuante), observándose que en 5 de ellos el valor final de triptasa aumentó mientras que descendió en los 5

restantes. En los 48 casos (65%) restantes se produjo una elevación de la triptasa (patrón ascendente) que fue continua en 20 de ellos (27%) y con una tendencia a la estabilización después del incremento inicial en los restantes 28 casos (38%). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) respecto al tiempo de seguimiento total, el tiempo transcurrido desde el inicio de la enfermedad hasta la determinación de la primera triptasa y la realización del primer estudio de MO, así como el tiempo transcurrido entre la realización de estas 2 pruebas diagnósticas entre estos tres grupos descritos (patrón descendente, fluctuante y ascendente).

En la Tabla X se resumen las principales características demográficas, clínicas y analíticas de los pacientes una vez agrupados según estos patrones de evolución de los niveles de triptasa en los primeros 48 meses de seguimiento. No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) entre estos 3 grupos en cuanto a los valores de triptasa inicial y final, ni en el porcentaje de mastocitos de MO determinado por citometría de flujo.

Todos los casos con un patrón descendente de triptasa -16 (100%)- tenían la mutación de *KIT* restringida al MC, mientras que 17 pacientes (89%) con la mutación multilineal pertenecían al grupo con patrón ascendente ($p=0,02$, Tabla X). En los casos con patrón ascendente de triptasa, los valores de la pendiente de triptasa fueron positivos durante el seguimiento tanto a los 48 meses, en 43 de 48 casos (90%), como al final del estudio en 45 de 48 casos (94%). Por el contrario, en los pacientes con patrón descendente de los niveles de triptasa, la pendiente fue negativa en 15 de 16 casos (94%) a los 48 meses, y en 12 de 16 casos (75%) al final del seguimiento, además en ningún paciente de este grupo el valor de la pendiente de triptasa fue mayor de 0,15 ($p<0,001$). En el grupo de pacientes con patrón fluctuante de triptasa, la pendiente fue positiva en 5 casos (50%) a los 48 meses, y en 3 casos (30%) al final del seguimiento; en el resto de los pacientes de este grupo la pendiente de triptasa se mantuvo negativa durante todo el periodo de seguimiento.

No se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos ni en cuanto a los síntomas asociados a la liberación de mediadores mastocitarios ni a

los requerimientos terapéuticos a los 48 meses de seguimiento (Tabla XI); si bien, en los casos con patrón ascendente, fueron más frecuentes tanto el prurito como el flushing. Además, en este mismo grupo, 2 pacientes requirieron tratamiento con ciclos cortos de corticoesteroides orales (prednisona y budesonida en ambos casos) para controlar el dolor abdominal y la diarrea que habían sido refractarios al tratamiento con cromoglicato, antihistamínicos H1, montelukast, ICX2; así como escopolamina, butilbromuro y loperamida a demanda.

En el resto de los pacientes, independientemente del patrón de evolución de la triptasa que tuvieran se emplearon los corticoesteroides de manera puntual para tratar dos cuadros de anafilaxia, uno de angioedema palpebral y labial y una urticaria generalizada (Tabla XI). Globalmente, se consiguió una reducción de los síntomas de liberación, con un resultado muy llamativo en cuanto a la frecuencia de los episodios anafilácticos, que pasó del 23% antes de que los pacientes fueran remitidos a nuestro Centro, a un 4% a los 48 meses de seguimiento.

C.2. DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE CORTE ÓPTIMO DE LA PENDIENTE DE VARIACIÓN DE LA TRIPTASA A LOS 48 MESES DEL ESTUDIO INICIAL

El análisis mediante curvas ROC demostró que un valor $\geq 0,15$ de la pendiente de triptasa tras 48 meses de seguimiento era el mejor punto de corte para predecir la mutación multilíneal en las MSI, con un área bajo la curva (ABC) de 73% (IC 95%: 60% - 86%, $p=0,002$) -Figura 14-. Todos los casos (31/31) con pendiente de triptasa $\geq 0,15$ a los 48 meses de seguimiento formaban parte del grupo con patrón ascendente de triptasa; asimismo, en todos los casos con patrones descendente y fluctuante de triptasa, el valor de pendiente de triptasa fue menor de 0,15 a los 48 meses. Además, en 37 de 74 casos (50%) incluidos en este estudio, cuyo seguimiento fue superior a los 10 años se realizó el mismo estudio con la variación de la pendiente de la triptasa a los 120 meses para predecir la presencia de la mutación multilíneal de *KIT* empleando el punto de corte antes citado de 0,15, como resultado se obtuvo una curva ROC con un ABC de 85% (IC 95%: 73%-98%, $p=0,001$) y un marcado aumento en la sensibilidad, especificidad y VPN (Figura 15).

D. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EVOLUCIÓN DE LAS MASTOCITOSIS SISTÉMICAS INDOLENTES EMPLEANDO EL PUNTO DE CORTE DE LA PENDIENTE DE TRIPTASA SÉRICA BASAL DE 0,15 A LOS 48 MESES DE SEGUIMIENTO

Globalmente, en 43 casos (58%) la pendiente de triptasa fue inferior a 0,15, mientras que en los 31 restantes (42%) esta pendiente fue igual o superior a 0,15 a los 48 meses de seguimiento. Las características demográficas de cada grupo, así como la mediana (rango) de los tiempos en los que se realizaron las pruebas diagnósticas se muestran en la Tabla XII, en la que puede verse que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos respecto a estos datos. Tampoco hubo diferencias en cuanto a la frecuencia de los síntomas asociados a la liberación de mediadores mastocitarios ni en lo que se refiere a los requerimientos de tratamiento antimedador (Tabla XIII).

Los corticoesteroides orales se emplearon a demanda y de forma ocasional para tratar episodios agudos de liberación de mediadores mastocitarios, en dos pacientes por episodios anafilácticos (una anafilaxia idiopática y otra desencadenada por hipersensibilidad inmediata a veneno de avispa -*Polistes dominulus*-), en otro paciente por un episodio de urticaria generalizada con angioedema palpebral secundario a hipersensibilidad inmediata a *Anisakis*, y en otro caso para tratar un episodio de angioedema palpebral y labial tras la picadura de una avispa sin que se demostrase un mecanismo de hipersensibilidad inmediata al veneno de himenópteros. En 2 casos, ambos con una pendiente de variación de triptasa $<0,15$ los corticoesteroides fueron prescritos de manera pauta por dolor abdominal y diarrea refractarios al tratamiento antimedador habitual. En tres pacientes fue necesario utilizar adrenalina por cuadros anafilácticos con compromiso cardiovascular; en uno de los pacientes la anafilaxia fue idiopática, en otro fue desencadenada por hipersensibilidad inmediata al veneno de avispa (*Polistes dominulus*) y en el restante por hipersensibilidad inmediata a *Anisakis*.

Cabe destacar que la mediana de la pendiente de triptasa fue significativamente mayor en los casos con la mutación de *KIT* multilineal, comparada con la mediana del grupo con la mutación de *KIT* restringida al MC,

tanto a los 48 meses de seguimiento [0,31 (rango: -0,44–12,44) frente a 0,04 (rango: -2–1,93); $p=0,002$] como al final del estudio [0,26 (rango: -0,82–21,42) frente a 0,05 (rango: -0,75–0,83); $p<0,001$]. Además, 13 casos (42%) con una pendiente de triptasa $\geq 0,15$ tenían la mutación multilíneal de *KIT*; por el contrario, sólo en una minoría [6 (14%)] de casos con pendiente de triptasa $<0,15$ se detectó la mutación multilíneal ($p=0,01$, Tabla XIV).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto a la aparición de osteoporosis, esclerosis ósea parcheada o difusa, ni organomegalias entre estos grupos; sin embargo, todos los casos con esclerosis ósea difusa tenían la mutación *KIT* multilíneal ($p=0,001$). El incremento progresivo de la triptasa con una pendiente superior a 0,15 junto con la aparición de hepatomegalia con esplenomegalia resultaron los únicos factores independientes para predecir la presencia de mutación multilíneal del *KIT* en las células de MO ($p=0,01$, y $p=0,009$, respectivamente; Tabla XV). El análisis multivariado confirmó que ambos factores eran la mejor combinación para predecir la presencia de mutación multilíneal con una especificidad del 100% y un 0% de falsos positivos (Tabla XV).

D.1. CRITERIOS “B Y C”

Respecto a la presencia de los criterios “B y C” de la OMS para valorar la presencia de formas agresivas de MS en el estudio inicial de MO, en ningún caso la infiltración mastocitaria fue superior al 30% de la celularidad global, en 11 pacientes de los 70 valorables (16%) la MO fue hipercelular, 3 de estos casos tenían la mutación de *KIT* multilíneal y además la pendiente de triptasa $\geq 0,15$ a los 48 meses de seguimiento, mientras que otros 2 casos cumplieron cada una de estas características de manera aislada.

En total 3 pacientes mostraron signos morfológicos de mielodisplasia sin citopenias ni otros criterios inmunofenotípicos o citogenéticos para establecer el diagnóstico de síndrome mielodisplásico, teniendo 2 de estos casos la mutación del *KIT* multilíneal, además 1 de ellos asoció una pendiente de triptasa $\geq 0,15$ a los 48 meses de seguimiento.

Dos de los pacientes (10%) a los que se realizó el segundo estudio de MO progresaron a una MSA, con la presencia de una infiltración mastocitaria de la MO superior al 30%, con un recuento de MC por citometría de flujo de 15% y 15,2%, respectivamente, hiper celularidad de la MO con signos de displasia, así como una triptasa >200 ng/mL en ambos casos. En los 3 pacientes cuya MO presentó cambios morfológicos displásicos en el primer estudio, éstos también fueron detectados en el segundo análisis de MO, si bien en ninguno de ellos se demostró un síndrome mielodisplásico verdadero ni tampoco progresaron a categorías más agresivas de la enfermedad. En 5 casos, la cifra de triptasa alcanzó valores superiores a 200 ng/mL durante la evolución (mediana de seguimiento de 71 meses -rango: 35 a 149 meses-); todos ellos presentaron un patrón ascendente de la triptasa así como una pendiente de triptasa $\geq 0,15$ a los 48 meses de seguimiento ($p=0,01$); de estos 5 pacientes, 4 (80%), todos con mutación multilíneal (2 de ellos mieloide, y dos mieloide y linfóide) progresaron a una MSS, y finalmente 2 progresaron a una MSA como se ha mencionado previamente. El caso restante, con la mutación del *KIT* restringida al mastocito, presentaba una esclerosis ósea parcheada desde los 36 meses de seguimiento y en ningún momento a lo largo del seguimiento cumplió criterios de progresión.

En este estudio, un total de 9 casos (12%) desarrollaron visceromegalias a lo largo del seguimiento; en concreto 7 casos presentaron una hepatomegalia con esplenomegalia, de ellos 5 (71%) tenían un pendiente de triptasa $\geq 0,15$ a los 48 meses de seguimiento ($p=0,05$) y la mutación multilíneal de *KIT* ($p=0,01$); además, los 4 casos en este estudio progresaron a categorías más agresivas de la enfermedad, desarrollaron específicamente este tipo de visceromegalia ($p<0,001$). Tan sólo 1 de los casos que progresó a una MSA tuvo anemia (hemoglobina de 8,9 g/dL), ninguno de los pacientes restantes presentó en el momento de inclusión ni desarrolló durante el seguimiento criterios C de la OMS. Por último, 2 mujeres con la mutación de *KIT* restringida al MC sufrieron fracturas patológicas vertebrales y de cadera a los 46 y 27 años, producidas 13 meses antes y en el momento de inclusión en el estudio, respectivamente; ambas tenían osteoporosis con t score de columna lumbar de -2,5. La pendiente de la triptasa fue de -0,68 y 0,18 a los 48 meses de seguimiento, y tras 94 y 115 meses

de seguimiento total, ninguna de ellas progresó a una categoría agresiva de la enfermedad.

D.2. PROGRESIÓN DE LAS MASTOCITOSIS SISTÉMICAS INDOLENTES

En total, 4 casos desarrollaron una MS smouldering tras una mediana de tiempo de seguimiento de 49 meses (rango: 8-85 meses), en todos ellos la pendiente de triptasa fue $\geq 0,15$ a los 48 meses ($p=0,03$) –Tabla XIV- y la mutación de *KIT* multilineal ($p=0,003$). Además, 2 de estos pacientes progresaron a una MSA tras 94 y 56 meses de seguimiento, respectivamente. Sus valores de triptasa fueron >200 ng/mL desde los 71 y 35 meses de seguimiento, con un pendiente de triptasa a los 48 meses de 0,98 y 12,44, respectivamente; cabe destacar que durante el seguimiento desarrollaron esclerosis ósea difusa a los 90 y 37 meses, así como hepatomegalia con esplenomegalia a los 90 y 54 meses. El diagnóstico se estableció tras realizar un segundo estudio de MO, tal y como se ha comentado previamente.

Por último, se indentificaron como factores capaces de predecir la progresión de la enfermedad a categorías más agresivas, tanto la pendiente de triptasa $\geq 0,15$ tras 48 meses de seguimiento ($p=0,03$; Figura 16), como la presencia de la mutación multilineal de *KIT* ($p=0,001$; Figura 17). Sin embargo, cabe destacar que al cierre de este estudio todos los pacientes incluidos continuaban vivos.

V-DISCUSIÓN

Las enfermedades poco frecuentes como son las mastocitosis, representan un reto sanitario de primer orden, ya que es habitual que un paciente afecto de este tipo de dolencia no consiga la atención adecuada por la justificada falta de experiencia de los profesionales en este tipo de patologías. Debe considerarse que para ningún sistema sanitario resultaría sostenible formar decenas o cientos de expertos en grupos de enfermedades de las que, con toda probabilidad, no verán ningún caso a lo largo de su vida profesional; pero este hecho conlleva que un paciente puede padecer durante años la enfermedad sin conseguir un diagnóstico adecuado, sin recibir un tratamiento eficaz ni conocer su futuro, lo que genera una angustia progresiva que, en el caso de las mastocitosis se traduce frecuentemente en un aumento de los síntomas asociados a la liberación de mediadores mastocitarios inducida por el estrés. Este grave problema sólo se soluciona con la creación de Redes Monográficas de Referencia, como es el caso de la Red Española de Mastocitosis.

A lo largo de los últimos 10 años y de forma más específica en los Programas Marco de la Unión Europea VI y VII, se ha puesto de manifiesto la necesidad de la creación de Centros y Unidades de Referencia para las Enfermedades Raras. En febrero de 2007 tuvo lugar una reunión en el Senado¹⁸⁸ con una ponencia sobre enfermedades raras en la que se podía leer, entre otras cosas: *“Son enfermedades insuficientemente conocidas por los profesionales de la salud, lo que origina un peregrinaje para obtener el diagnóstico, una fuente de sufrimiento para los pacientes y sus familias y un retraso en su atención, que a menudo no es adecuada”*. En esta misma ponencia se puso de manifiesto la relevancia de *“reconocer centros a nivel nacional, compuestos por equipos pluridisciplinarios que tuvieran, entre otras, las funciones siguientes: facilitar el diagnóstico y definir una estrategia de atención terapéutica psicológica y de acompañamiento social; definir y difundir los protocolos de atención y coordinar los trabajos de investigación...”*.

A partir de junio de 2009 el Ministerio de Sanidad y Política Social puso en marcha el Plan Estratégico Nacional de Enfermedades Raras en el que se da una relevancia especial a los Centros y Unidades de Referencia y se establecen los

criterios de “Buenas Prácticas” para su creación y reconocimiento. En dicho plan se incide en la importancia de que dichos centros desarrollen proyectos de investigación aplicada capaces de aportar avances significativos en el diagnóstico, la clasificación o el tratamiento de estas enfermedades.

El estudio que aquí se presenta es un claro ejemplo de cómo la investigación aplicada es capaz de encontrar vías que permitan mejorar el conocimiento sobre el diagnóstico y la evolución de las mastocitosis en centros que carezcan de la tecnología necesaria para llevarlo a cabo de forma más académica a la vez que más exacta. Este trabajo representa una parte de los protocolos que está desarrollando la REMA para permitir un diagnóstico integral de las mastocitosis con una metodología simple y con un coste económico bajo, basado en los datos clínicos del paciente y la determinación de la triptasa sérica basal.

La clasificación de la OMS del año 2001¹⁰⁵ que se volvió a publicar prácticamente sin cambios en el año 2008 con participación de la REMA,¹⁰⁶ supuso una aportación de primera magnitud tanto al mejor conocimiento de las mastocitosis como a su diagnóstico y clasificación; sin embargo, la REMA ha revisado de forma exhaustiva dicha clasificación sobre la base de estudios prospectivos en un elevado número de casos, lo que nos ha permitido poner de manifiesto sus limitaciones las cuáles se pueden resumir en los siguientes puntos:

- 1) La actual definición de las mastocitosis no se puede aplicar a todas las categorías de la enfermedad; así, los términos establecidos por la OMS de “proliferación y acumulación de MC patológicos en diferentes tejidos” no son aplicables a las MS en estadios iniciales en las cuales no existe ni proliferación ni acumulación de mastocitos.^{107;116;117}
- 2) Los agregados mastocitarios, el único criterio mayor admitido en dicha clasificación, están ausentes en un alto porcentaje de MS en los estadios iniciales, en torno al 20% de las MSIp+ y el 33% de las MSIp-.¹¹⁹
- 3) En la clasificación de la OMS no se distingue entre los criterios diagnósticos directos, capaces de detectar una lesión anatómica (el agregado) o MC anormales (morfología anormal, expresión aberrante de CD25, mutación del *KIT*) y los indirectos (aumento de la cifra de triptasa basal). Estos

criterios han sido recientemente revisados y evaluados de forma independiente y en conjunto por la REMA.^{116;117}

- 4) No se considera la presencia de mastocitosis demostrada en la piel como criterio diagnóstico a pesar de que su sensibilidad es mayor del 95%.¹¹⁷
- 5) No tiene una implicación en el pronóstico a largo plazo de las MSI que son las formas más frecuentes de la enfermedad.¹⁰⁷

En la Tabla IX se especifican los criterios diagnósticos empleados por la OMS; la REMA considera que tanto la presencia de MC CD25 positivos como la presencia de mutación de *KIT* son criterios diagnósticos directos, que permiten diagnosticar de forma precoz casos de MSI que siguiendo los criterios OMS podrían ser clasificados como formas cutáneas puras; una posibilidad real que tiene una gran relevancia clínica, ya que al paciente se le puede transmitir la falsa idea de que padece una enfermedad benigna, localizada en la piel y que nunca progresará. Desafortunadamente esto no es cierto, ya que la mayoría de los casos corresponden a verdaderas formas sistémicas y entre ellas un porcentaje cercano al 30% tiene una mutación del *KIT* multilineal que va asociada a una elevada probabilidad de progresión.

Tanto el diagnóstico como la clasificación asociada al pronóstico de las mastocitosis en el año 2012, exige la utilización de métodos sofisticados que no se encuentran al alcance de todos los grupos, como la citometría de flujo multiparamétrica, para la identificación y caracterización inmunofenotípica de las células presentes en baja frecuencia en una muestra,^{47;53} y la purificación mediante FACS de MC y otras líneas hematopoyéticas como los neutrófilos, los monocitos y los linfocitos, con una pureza superior al 97%, con el fin de establecer el patrón de mutaciones de *KIT* que está directamente asociado al pronóstico^{115;141} y que permite identificar tres grupos diferentes de pacientes con MSI:

- 1) Pacientes con la mutación del *KIT* restringida al MC con una esperanza de vida similar a la de la población general de la misma edad y género.
- 2) Pacientes con la mutación del *KIT* presente en los MC y líneas mieloides.

3) Pacientes con la mutación del *KIT* presente en los MC, líneas mieloides y linfoides.

En relación con el pronóstico de las mastocitos del adulto, se puede admitir que es favorable para las formas cutáneas puras (una categoría muy poco frecuente)¹⁰⁷ y desfavorable en el caso de las MSA y las LM. Sin embargo, en las MSI con o sin lesión cutánea el pronóstico es variable, y sólo existe un estudio publicado en el año 2009, en el que se valora tanto la posibilidad de progresión a una forma más agresiva como el pronóstico a largo plazo de las MSI.¹⁴¹

Se trata de un estudio basado en una serie de 145 pacientes diagnosticados de MSI, con una mediana de edad al diagnóstico de 37 años (rango: 16-72 años). En todos ellos se estudió la presencia de mutaciones del *KIT* tanto en el MC como en las demás células hematopoyéticas purificadas para establecer el patrón de mutaciones en cada caso. Estos pacientes fueron seguidos prospectivamente durante una mediana de tiempo de 9 años (rango: 2 meses-40 años) y sólo se empleó tratamiento citorreductor en los 5 casos que progresaron a formas agresivas de la enfermedad, y en otros 8 casos para el tratamiento de complicaciones asociadas a la liberación de mediadores mastocitarios; en concreto, en 4 pacientes con fracturas patológicas secundarias a osteoporosis grave, en 2 pacientes con episodios de anafilaxia recurrente sin respuesta al tratamiento antimedador intensivo, en 1 paciente con dolor óseo secundario a esclerosis ósea, y por último, en 1 paciente que desarrolló mastocitomas axilares de gran tamaño.

Treinta y nueve (27%) de los pacientes incluidos en este estudio mostraron signos de progresión biológica (conforme a los criterios definidos en este estudio), con una mediana de tiempo desde el diagnóstico de 86 meses (rango: 6-382 meses); 11 de ellos (28%) cumplieron 2 ó mas criterios de progresión biológica. En concreto, en 4 casos (10%) la triptasa era mayor de 200 ng/mL en ausencia de esclerosis ósea difusa, 22 pacientes (56%) tenían osteoporosis (en 4 de ellos asociada a fracturas patológicas), 4 pacientes (10%) tenían esclerosis ósea difusa y 5 casos (13%) esclerosis ósea parcheada. Seis pacientes (15%) tenían hepatomegalia y 8 casos (21%) esplenomegalia; por último, un paciente

(3%) desarrolló mastocitomas axilares bilaterales de gran tamaño. Además, 2 pacientes evolucionaron a una MSS conforme a los criterios de la OMS, 224 y 382 meses después del diagnóstico de MSI; ninguno de ellos progresó a una categoría agresiva de la enfermedad y ambos estaban vivos 53 y 66 meses después de haber aparecido la MSS.

En 5 pacientes (3%) se produjo una progresión clínica tras una mediana de tiempo desde el diagnóstico de 147 meses (rango: 61 - 329 meses); de ellos, 3 pacientes desarrollaron otra enfermedad hematológica clonal (1 síndrome mielodisplásico –SMD-, 1 leucemia mieloide aguda –LMA- y 1 policitemia vera a los 10, 12 y 5 años del diagnóstico de MSI, respectivamente); un paciente progresó a una MSA y otro a una LM tras 27 y 5 años del diagnóstico de MSI, respectivamente. La probabilidad de progresión de las MSI desde el momento del diagnóstico fue del $1,7\% \pm 1,2\%$ a los 5 y 10 años, del $3,8\% \pm 2,4\%$ a los 15 años, y del $8,4\% \pm 5\%$ a los 20 y 25 años. Además, se vió que la elevación de la $\beta 2$ -microglobulina sérica ($p=0,003$) junto con la presencia de la mutación D816V de *KIT* multilineal ($p=0,02$) fueron la mejor combinación de factores independientes para predecir la progresión de la enfermedad (Figura 18).

Al finalizar este estudio, 7 pacientes (5%) fallecieron tras una mediana de tiempo de seguimiento de 8 años (rango: 2 meses–27 años), con una mediana de edad de 71 años (rango: 37-80 años). Tan sólo en 2 de estos casos la mastocitosis fue la causa directa de la muerte, 1 de ellos (con la mutación de *KIT* multilineal) desarrolló una LMA refractaria a quimioterapia y otro un SMD, fallecieron 12 y 27 años tras el diagnóstico de MSI, respectivamente. Se determinó que la mejor combinación de variables independientes para predecir una menor supervivencia fue: edad al diagnóstico superior a 60 años ($p=0,005$), elevación de la fosfatasa alcalina sérica ($p=0,03$) y asociación de otra enfermedad hematológica ($p=0,03$). (Figura 19) Además, la probabilidad acumulada de muerte para las MSI fue de $2,2\% \pm 1,3\%$ a los 5 años, $3,4\% \pm 1,7\%$ a los 10 años, $5,5\% \pm 2,7\%$ a los 15 y 20 años, y $11\% \pm 5,9\%$ a los 25 años.

En resumen, en este trabajo se explora por primera vez la evolución a largo plazo de la MSI, y se realiza una clasificación de la enfermedad según el patrón de

mutaciones del *KIT* que varía desde las formas con afectación exclusiva de la célula madre del MC y su progenie, hasta aquellos pacientes con afectación de una célula madre primitiva pluripotencial que es portadora de una alteración genética que transmite tanto al MC como a las demás células hematopoyéticas. Estos patrones permiten clasificar las MSI de acuerdo con su pronóstico a largo plazo y, por lo tanto, transmitir a los pacientes una información exacta sobre su enfermedad. Además, permite decidir el tipo de controles clínicos que deben realizarse a lo largo de la evolución, más frecuentes en las formas con mutación multilíneal, evita el uso de tratamientos que pueden incrementar el riesgo de segundas neoplasias en pacientes con una esperanza de vida normal (casos con mutación restringida al MC), y ayuda a tomar decisiones terapéuticas más agresivas en los casos con riesgo de progresión.

En otro estudio que incluía 342 pacientes,¹⁸⁹ de los que 159 (46%) correspondían a MSI, el estudio de la mutación D816V de *KIT* se realizó sólo en 165 de ellos (48%) sin que se estudiara su presencia o ausencia en células hematopoyéticas distintas del MC. Además, sólo se detectó dicha mutación en el 78% de las MSI, el 82% de las MSA y el 60% de las MS asociadas a otra hemopatía clonal; esta diferencia con nuestros datos¹¹⁵ sugiere una falta de sensibilidad de la técnica empleada para el estudio molecular. Como era de esperar, al considerar de forma global la presencia de la mutación de *KIT*, ésta no tuvo un impacto en el pronóstico de las MSI. De los 165 pacientes con MSI, 26 (16%) fallecieron a lo largo del seguimiento; en 13 de ellos no se especifica la causa de la muerte y, respecto a los 13 restantes, en 4 de ellos la muerte se debió a una progresión de la enfermedad (3 a MSA y 1 a LCM), en 3 a episodios anafilácticos y en los 7 restantes a causas aparentemente no relacionadas con la mastocitosis. Cabe destacar que la supervivencia global (198 meses) para este grupo de MSI fue significativamente menor que en nuestra serie lo que podría explicarse en parte por la mayor edad media en el momento del diagnóstico, y en parte por el uso de tratamientos citorreductores en el grupo de la Clínica Mayo que podrían influir de forma negativa en la historia natural de las MSI.

En el momento actual la importancia del patrón de la mutación del *KIT* para predecir la evolución de las MSI es innegable; por ello y dado que la metodología

requerida para su estudio no está al alcance de todos los grupos, parece indispensable la búsqueda de métodos alternativos capaces de predecir la presencia de la mutación multilineal cuando no se puede realizar un estudio molecular completo.

A lo largo de los últimos años la REMA ha desarrollado protocolos alternativos y fácilmente aplicables enfocados a cubrir aspectos clínicos prácticos relevantes (a nivel diagnóstico, terapéutico y pronóstico) tanto de las mastocitosis pediátricas como del adulto, entre ellos cabe destacar:

- 1) Predicción de la intensidad de los síntomas asociados a la liberación de mediadores mastocitarios en las formas pediátricas a partir de los valores de la triptasa sérica y la extensión de las lesiones cutáneas; ambos métodos de fácil aplicación clínica y bajo coste económico. Desde un punto de vista práctico, este estudio proporciona información a los médicos responsables sobre la posible gravedad de los síntomas clínicos en los niños lo que a su vez les permite tomar decisiones sobre el tipo de tratamiento más adecuado para frenar la liberación de mediadores mastocitarios.¹⁴⁸
- 2) Protocolos específicos para ser aplicados en situaciones de riesgo para los pacientes con mastocitosis que van a ser sometidos a una anestesia general o local (ver Anexo I), o para ser aplicados en otras situaciones específicas como el embarazo y el parto en mujeres con mastocitosis; todo ello, conforme a la experiencia acumulada por la REMA. Estos protocolos y guías clínicas aportan información exhaustiva a los profesionales de modo que les permite resolver las dudas de las pacientes sobre la repercusión del embarazo en la mastocitosis y viceversa, elegir el tratamiento adecuado durante el embarazo sin que suponga un riesgo añadido al feto, y controlar los factores que pueden inducir una desgranulación mastocitaria masiva sin denegar el uso de métodos habitualmente empleados durante el parto como la anestesia epidural.¹⁹⁰
- 3) Predicción de la clonalidad en los síndromes de activación mastocitaria partiendo de datos demográficos y clínicos junto con los valores de la triptasa sérica (Tabla XVI); esto permite distinguir aquellos casos cuyos MC

van a tener con alta probabilidad una mutación del *KIT* y expresión de CD25 (MC clonales) y los casos con mutación del *KIT* negativa sin expresión de CD25 (no clonales). La utilidad práctica de este estudio es doble: por una parte permite mejorar la información a los pacientes sobre su enfermedad, es decir, sobre la probabilidad de padecer una enfermedad mastocitaria clonal o no; y, por otra parte, posibilita decidir si se realiza un estudio de MO según exista o no la sospecha de que los MC sean clonales,^{119;191} evitando, de ese modo, estudios innecesarios de MO.

- 4) Predicción de la presencia de la mutación multilineal del *KIT* basada en los patrones inmunofenotípicos descritos por la REMA;⁵³ así, el fenotipo maduro activado se asocia a las categorías de MS de buen pronóstico, que habitualmente presentan la mutación de *KIT* sólo en los MC; el fenotipo inmaduro es típico de las formas de MS de peor pronóstico que, además, presentan la mutación D816V de *KIT* multilineal; y el fenotipo maduro no activado es típico de las MSBD.¹²⁹ Sin embargo, en lo que se refiere a la predicción de la presencia de mutación multilineal del *KIT* por medio de la citometría de flujo, es una técnica que tampoco está al alcance de todos los grupos; por ello hemos aprovechado la experiencia de nuestro grupo a lo largo de más de 30 años para poner a punto una alternativa sencilla y fácil de aplicar para predecir la presencia de la mutación multilineal de *KIT* y, por lo tanto, para disponer de una aproximación al pronóstico de las MSI sin necesidad de recurrir en un primer momento, a métodos más sofisticados como la citometría de flujo, la purificación celular o la biología molecular. Para ello, en el presente trabajo se ha analizado el valor del estudio secuencial de la triptasa sérica basal para predecir la presencia de la mutación de *KIT* multilineal, por tratarse de un método analítico sencillo, que sólo precisa la extracción de una muestra de sangre, que resulta de fácil aplicación en la práctica clínica diaria, con un coste muy bajo comparado con el resto de los estudios previamente mencionados, y al que habitualmente se puede acceder en la mayoría de los centros sanitarios.

En este estudio se ha incluido un grupo homogéneo de pacientes diagnosticados de MSI, todos ellos controlados directamente por la REMA, con un

tiempo mínimo de seguimiento desde la primera determinación de la triptasa sérica basal de 48 meses. No se incluyó ningún caso en el que se detectara al inicio del estudio un aumento de la densidad ósea (esclerosis ósea difusa) ya que este grupo de mastocitosis tiene cifras de triptasa superiores a los casos que no tienen esta alteración ósea, sin que aparentemente estos valores se correlacionen con la carga mastocitaria de la MO.^{107;141;149}

Los síntomas globales asociados a la liberación de mediadores mastocitarios fueron similares a los referidos en estudios previos de la REMA^{109;177} con un patrón de comportamiento clínico diferente entre los casos de MSI con o sin lesión cutánea;¹¹⁹ así, el 100% de las MSIp- incluidos tuvieron episodios anafilácticos, si bien, fuera de los episodios agudos, presentaron menos síntomas debidos a la liberación crónica de mediadores mastocitarios que las MSIp+. Los desencadenantes de los cuadros agudos en este grupo fueron similares a los descritos previamente con predominio de los AINEs y las picaduras de himenópteros.^{176;192} En total, 14 pacientes (19%) presentaron osteoporosis durante el periodo del estudio, esta es una cifra similar a las previamente descritas en otras series de MSI;^{141;193} sin embargo, en nuestra serie sólo 2 (3%) de estos casos padecieron fracturas patológicas, ambos antes de ser referidos a la REMA; y esta cifra es muy inferior a las descritas por otros grupos con una frecuencia acumulada de fracturas patológicas que oscila entre el 17% y el 37%.^{194;195}

Aunque se han publicado diversas guías sobre el tratamiento y prevención de los síntomas asociados a la liberación, aguda o crónica, de mediadores mastocitarios^{109;176;183}, sólo un pequeño porcentaje de pacientes había recibido un tratamiento adecuado antes de ser referidos a la REMA. Una vez valorados en nuestro Centro, cada paciente recibió un tratamiento individualizado, adaptado tanto a los síntomas de liberación como a la prevención de las complicaciones frecuentemente asociadas a las mastocitosis. En ese sentido, la información proporcionada a los pacientes sobre su enfermedad, incluyendo aquellos factores que podrían desencadenar cuadros de liberación potencialmente graves, todo ello por escrito, a través de los diversos cuadernos de información y los protocolos para situaciones de riesgo, junto con el tratamiento farmacológico indicado en

cada caso, consiguió una disminución de la sintomatología, incluyendo los síntomas más graves. Este hecho pone de relieve la importancia de la existencia de centros especializados en enfermedades poco frecuentes, que posean protocolos terapéuticos específicos adaptados a los problemas clínicos de cada caso.

La posibilidad de determinar los niveles de triptasa sérica basal ha supuesto un gran avance en el conocimiento, el diagnóstico y el seguimiento de las mastocitosis; de manera que una triptasa superior a 20 ng/mL se considera un criterio menor para el diagnóstico de las MS.¹⁰⁶ Además, se ha relacionado el valor de la triptasa sérica con la carga mastocitaria total en las MS⁹² y con el grado de infiltración de la MO por MC.¹⁴⁴ Por otra parte, los valores de triptasa pueden ser útiles para la clasificación de las mastocitosis tanto sistémicas^{104;120;121;147;173} como cutáneas;¹⁴⁸ así como para la valoración de la respuesta al tratamiento de las mastocitosis bien sea con moduladores de la respuesta biológica como el interferón,¹⁹⁶⁻¹⁹⁸ tratamiento citorreductor con cladribina^{196;199;200} o tratamientos específicos frente al c-kit como los inhibidores de tirosina cinasa imatinib^{196;201-203} o dasatinib,^{199;204} entre otros. Por último, el valor de la elevación de la triptasa sérica en el diagnóstico de los episodios anafilácticos está bien documentado.^{142;150;151}

En este estudio, se ha dado un paso más al demostrar que la variación de los niveles de triptasa a lo largo del tiempo resulta más útil que la determinación aislada de la misma para predecir la presencia de la mutación multilineal de *KIT* y, por tanto, la evolución de las MSI; por lo que proponemos que este estudio se lleve a cabo de forma habitual en aquellos centros que no tengan capacidad de llevar a cabo estudios moleculares con las técnicas mencionadas previamente.

Es importante resaltar que sólo se tuvieron en cuenta los valores de triptasa obtenidos fuera de los episodios agudos de liberación para evitar aumentos puntuales de esta proteasa que hubieran invalidado el estudio. Dado que la triptasa basal depende de la carga mastocitaria y del grado de liberación de la enzima asociado a la activación del MC, sería posible que existiera una diferencia entre los síntomas de liberación según el patrón de mutaciones; sin embargo, no

se encontraron diferencias significativas, en lo que se refiere a estos síntomas, entre los pacientes con la mutación de *KIT* restringida al MC y aquellos con la mutación multilíneal. Tampoco se identificaron diferencias significativas en cuanto al tratamiento antimedador empleado entre el grupo de pacientes con mutación restringida al MC y el grupo con mutación multilíneal por lo que, en lo que a este estudio se refiere, no se pueden asociar los cambios en los niveles de triptasa a lo largo de la evolución con el tratamiento recibido a lo largo de ésta.

A pesar de que la mediana de la triptasa sérica basal fue significativamente mayor en los pacientes con mutación multilíneal del *KIT* que en aquellos con la mutación restringida al MC, tanto en la primera determinación como al final del estudio, no se encontraron diferencias significativas ni en el tiempo transcurrido desde el inicio de la enfermedad hasta la primera determinación de la triptasa, ni en el tiempo total de seguimiento entre los dos grupos de pacientes; es decir, los grupos seleccionados son homogéneos en cuanto a los parámetros citados sin que las diferencias detectadas en cuanto a la variación de la triptasa entre ambos grupos se puedan atribuir a estos factores.

Si se revisa de forma más específica el patrón de evolución de los niveles de triptasa, se observa que en todos los casos con un patrón descendente de triptasa la mutación de *KIT* estaba restringida al MC; mientras que en el 35% de los pacientes con patrón ascendente la mutación afectaba a otras líneas hematopoyéticas. Si además se emplea el valor de pendiente de triptasa tras 48 meses de seguimiento $\geq 0,15$, considerado como el mejor punto de corte para predecir la mutación multilíneal en las MSI, el 65% de los casos con patrón ascendente la pendiente de triptasa era superior a 0,15 a los 48 meses de seguimiento mientras que en todos los casos con patrón descendente y fluctuante la pendiente de la triptasa a los 48 meses fue $< 0,15$.

Al analizar la relación entre la variación de la pendiente de la triptasa y el patrón de la mutación del *KIT* se vio que el valor de la pendiente fue significativamente mayor en los casos con la mutación de *KIT* multilíneal tanto a los 48 meses de seguimiento como al final del estudio. Además, el 42% de pacientes con una pendiente de triptasa $\geq 0,15$ tenían la mutación de *KIT*

multilineal; por el contrario, sólo una minoría (14%) de los casos con la pendiente de la triptasa $<0,15$ tenían la mutación multilineal.

Al analizar la relación entre la pendiente de triptasa y la presencia de signos B o C de la OMS, en el análisis estadístico sólo resultaron significativos los criterios B -triptasa >200 ng/mL y visceromegalias sin alteración funcional, encontrándose en concreto que la hepatomegalia con esplenomegalia (detectada en 7 casos -9%-) se comporta como un factor independiente para predecir la mutación de *KIT* multilineal. Los 5 casos (7%) que alcanzaron un valor de triptasa superior a 200 ng/mL durante la evolución, tuvieron una pendiente de triptasa $\geq 0,15$ a los 48 meses seguimiento, encontrándose este valor de la pendiente en 3 de estos pacientes antes de que alcanzaran la cifra de 200 ng/mL, lo que resulta de gran importancia clínica. Además, 4 de estos casos tenían la mutación de *KIT* multilineal, progresaron a MSS, y finalmente 2 de ellos evolucionaron a MSA. El paciente restante (1/5), tenía la mutación de *KIT* restringida al MC, esclerosis ósea parcheada y se mantuvo en una categoría indolente de la enfermedad al cerrar el estudio. Nueve pacientes (12%) desarrollaron visceromegalias a lo largo del estudio; en concreto 7 casos presentaron una hepatomegalia con esplenomegalia, y entre ellos el 57% progresaron a categorías más agresivas de la enfermedad, tal y como se ha explicado previamente; de modo que la aparición de este tipo concreto de visceromegalia además de resultar útil para predecir la mutación multilineal de *KIT*, también se puede emplear para sospechar la progresión de la enfermedad.

En total, 14 pacientes tuvieron osteoporosis a lo largo de este estudio, sin que se encontrasen diferencias significativas respecto al valor de la pendiente de triptasa de 0,15; 2 de estos pacientes asociaron fracturas patológicas secundarias a la osteoporosis. Ninguno de estos 14 pacientes progresó a categorías agresivas, y no se consiguió establecer una relación entre la osteoporosis o las fracturas patológicas y la presencia de la mutación de *KIT* multilineal; por estos motivos, nuestro grupo no considera las fracturas patológicas como un signo de agresividad de la enfermedad;¹⁰⁷ esta modificación del criterio ha sido propuesto por la REMA y aceptado en la una reciente reunión de expertos celebrada en

Boston en Octubre de 2012 (Mastocytosis symposium and consensus meeting on classification and diagnostic criteria for mastocytosis, Boston, 25-28 de octubre de 2012).

Por otra parte, en los 5 casos con esclerosis ósea difusa (23%) la mutación de *KIT* fue multilíneal, lo que sugiere una estrecha relación entre estas 2 condiciones. Sólo uno de los pacientes con esclerosis ósea difusa tuvo una pendiente de triptasa $<0,15$ a los 48 meses de seguimiento, y fue el único caso de este grupo que al cierre de este estudio (tras 112 meses de seguimiento) aún no había presentado datos de progresión. Sin embargo, cabe destacar que aunque según la experiencia de la REMA la esclerosis ósea difusa predomina en los pacientes con mutación de *KIT* multilíneal encontrándose hasta en el 38% de los casos, hemos detectado un 4% de pacientes con esclerosis ósea difusa y la mutación de *KIT* restringida al mastocito, $p < 0,001$ (REMA, datos no publicados), por lo que la sola presencia de este hallazgo debe evaluarse con cautela antes de considerarse como un signo de mutación multilíneal por sí mismo.

Debe destacarse que en el segundo estudio de MO realizado a 20 pacientes de este estudio tras un tiempo de seguimiento similar, el aumento del número de MC fue significativamente mayor en el grupo con la mutación de *KIT* multilíneal y en los pacientes con una pendiente de triptasa superior a 0,15.

Todos estos ejemplos ilustran la utilidad práctica que supone emplear la evolución de los valores de la triptasa (pendiente de la triptasa), frente a los valores de triptasa aislados, para evaluar la situación clínica de un paciente con MSI y predecir sus posibilidades de progresión de forma indirecta; si bien es cierto que sólo el patrón de la mutación de *KIT* es el único método directo para este fin.¹⁴¹

Debe destacarse que el punto de corte de 0,15 tiene un VPN del 86% por lo que para los casos con la pendiente de triptasa $<0,15$ es muy poco probable que tengan la mutación de *KIT* multilíneal; sin embargo el VPP es del 42%, de modo que en este estudio hay 18 pacientes (24%) falsos positivos, con la mutación de *KIT* restringida al MC en los que se detectó una pendiente de triptasa $\geq 0,15$ a los

48 meses de seguimiento; en todos ellos se continuó estudiando de forma secuencial la triptasa y se comprobó que sólo 8 de ellos mantuvieron una pendiente de triptasa superior a 0,15 al final del seguimiento; en 2 de ellos se repitió el estudio molecular y se confirmó que la mutación *KIT* estaba restringida al MC. En resumen, la predicción del patrón de mutación multilíneal con el método descrito arroja un porcentaje de falsos positivos del 24%; lo que desde un punto de vista clínico significa que en estos casos el seguimiento será más estrecho, aunque no supone la realización de prácticas diagnósticas invasivas. Sólo si esta pendiente se mantiene elevada a lo largo del tiempo, por ejemplo más de 10 años (en ausencia de signos de progresión de la enfermedad), sería aconsejable realizar un nuevo estudio de MO.

Ocasionalmente, el seguimiento de la pendiente de triptasa en pacientes con mutación aparentemente restringida al MC puede detectar falsos negativos para la mutación multilíneal. En este sentido, en nuestro centro tenemos dos casos representativos de MSIp+, en los que se detectó la mutación de *KIT* restringida al MC en el estudio inicial, cuya pendiente de triptasa se elevó por encima de 0,15 a lo largo del seguimiento con unos valores de 1,1 a los 48 meses en uno de ellos y de 0,2 a los 60 meses en el otro (que previamente tuvo una pendiente de triptasa de 0,04 a los 48 meses). En ambos casos se repitió el estudio de la mutación de *KIT* en células purificadas de MO, y esta vez se pudo demostrar que la mutación era multilíneal en ambos casos.

Hipotéticamente, se puede pensar que si los estudios de la mutación en células purificadas se realizan de manera precoz, el número de células madre de los diversos compartimentos hematopoyéticos, mieloides y linfoides es muy bajo y, por lo tanto, sólo un mínimo porcentaje de su progenie será portadora de ADN genómico con la mutación del *KIT*, quedando por debajo del nivel de detección de la técnica empleada (ver métodos); sin embargo, a lo largo de la evolución es factible que los precursores que porten la mutación tengan una ventaja proliferativa (o de supervivencia) respecto a los normales con el consiguiente aumento del porcentaje de células que contienen ADN genómico mutado y, por ello resulte detectable con mayor facilidad.

VI- CONCLUSIONES

La pendiente de la triptasa sérica basal, calculada mediante regresión lineal a partir de las determinaciones de triptasa extraídas en situación clínica basal durante los primeros 48 primeros meses de seguimiento, permite identificar 2 grupos diferentes de pacientes con MSI mediante el punto de corte de 0,15:

- 1) Aquellos con una alta probabilidad de tener la mutación de *KIT* restringida al MC, sin riesgo de progresión.
- 2) Pacientes con una alta probabilidad de tener la mutación de *KIT* multilineal, y por lo tanto un mayor riesgo de progresión.

Así mismo, debe tenerse en cuenta que la aparición de hepatomegalia con esplenomegalia también se ha identificado como un factor predictivo de la mutación de *KIT* multilineal, y que todos los casos que presentaron esclerosis ósea difusa tenían la mutación multilineal.

VII- COROLARIO PRÁCTICO

Basándonos en todos estos datos, proponemos un protocolo clínico que actualmente aplicamos en nuestro Centro para realizar el seguimiento de los pacientes con MSI en función del patrón de la mutación de *KIT*. Proponemos que aquellos centros que no tengan la posibilidad de estudiar la mutación del *KIT* en todas las líneas hematopoyéticas sigan el siguiente protocolo en las MSI, que se encuentren bien controladas con el tratamiento antimedador previamente mencionado, y que no presenten datos de agresividad de la enfermedad:

- 1) Anamnesis y exploración física, así como una ecografía abdominal, una densitometría y serie ósea al inicio.
- 2) Análisis de sangre que incluya hemograma, bioquímica elemental con perfil hepático y renal, y cuantificación de la triptasa cada 6 meses durante los primeros 48 meses de seguimiento. En ese momento, se deberá calcular la pendiente de evolución de la triptasa mediante regresión lineal utilizando los programas estadísticos habitualmente disponibles. A partir de este dato usando el punto de corte de 0,15 podrán identificar a 2 grupos diferentes de pacientes:

2.1) Pacientes con una pendiente de la triptasa inferior a 0,15 y que probablemente tendrán la mutación de KIT restringida al mastocito. Estos pacientes tendrán una enfermedad estable con riesgo muy bajo o nulo de progresión.

2.2) Pacientes con una pendiente de la triptasa superior a 0,15 que, con alta probabilidad, tendrán la mutación del KIT multilíneal y mayor riesgo de progresión de la enfermedad.

- 3) ECO abdominal y serie ósea tras 48 meses de seguimiento, con el fin de identificar aquellos casos que hayan desarrollado visceromegalias o esclerosis ósea difusa durante este periodo.

A partir de esta clasificación los protocolos de seguimiento se podrán adaptar a cada grupo (Figura 19), siendo necesario un seguimiento más estrecho en los pacientes con una pendiente de triptasa superior a 0,15 a los 48 meses; en estos casos, la evaluación deberá realizarse cada 6 meses incluyendo los datos

clínicos y la exploración física, el estudio de laboratorio con determinación de la triptasa basal y una ecografía abdominal cada año; todo ello con el objetivo de detectar de forma precoz una posible progresión. Por el contrario, en los casos con una pendiente de triptasa menor de 0,15 que no tengan hepatomegalia ni esplenomegalia, los mencionados estudios se podrán realizar con una frecuencia anual excepto la ecografía abdominal que se llevará a cabo cada 2 años. Además, los datos presentados en este trabajo apoyan la necesidad de volver a calcular el valor de la pendiente de la triptasa en las posteriores determinaciones a partir de los 48 meses de seguimiento, ya que, tal y como hemos mostrado, el punto de corte de 0,15 aumenta su sensibilidad y especificidad cuanto mayor es el tiempo de seguimiento.

Por otra parte, para valorar la densidad ósea se recomienda solicitar una densitometría ósea cada 2 años en aquellos pacientes en los que previamente se haya detectado un déficit de masa ósea, mientras que esta prueba se puede demorar por encima de los tres años en los pacientes con valores de t score superiores a -1. También es aconsejable realizar un estudio radiológico óseo de columna dorsal y lumbar, huesos largos y pelvis en la primera visita del paciente y, posteriormente si existen datos clínicos (dolor óseo) o bioquímicos (aumento llamativo de los valores de triptasa basal ≥ 100 ng/mL sin otros datos de progresión) que sugieran el desarrollo de esclerosis ósea difusa.

VIII- BIBLIOGRAFÍA

1. Ehrlich P. Beiträge zur Kenntniss der granulierten Bindegewebszellen und der Eosinophilen Leukocyten. Arch Anat Physiol 1879;3:166-169.
2. Kirshenbaum AS, Kessler SW, Goff JP, Metcalfe DD. Demonstration of the origin of human mast cells from CD34⁺ bone marrow progenitor cells. J Immunol 1991;146:1410-1415.
3. Agis H, Willheim M, Sperr WR, Wilfing A, Krömer E, Kabrna E et al. Monocytes do not make mast cells when cultured in the presence of SCF: Characterization of the circulating mast cell progenitor as a *c-kit*⁺, CD34⁺, Ly⁻, CD14⁻, CD17⁻, colony-forming cell. J Immunol 1993;151:4221-4227.
4. Agis H, Beil WJ, Bankl HC, Füreder W, Sperr WR, Ghannadan M et al. Mast cell-lineage versus basophil lineage involvement in myeloproliferative and myelodysplastic syndromes: Diagnostic role of cell-immunophenotyping. Leuk Lymphoma 1996;22:187-204.
5. Rottem M, Okada T, Goff JP, Metcalfe DD. Mast cells cultured from the peripheral blood of normal donors and patients with mastocytosis originate from a CD34⁺/Fc ϵ RI⁻ cell population. Blood 1994;84:2489-2496.
6. Kirshenbaum AS, Goff JP, Semere T, Foster B, Scott LM, Metcalfe DD. Demonstration that human mast cells arise from a progenitor cell population that is CD34⁺, *c-kit*⁺, and expresses aminopeptidase N (CD13). Blood 1999;94:2333-2342.
7. Furitsu T, Saito H, Dvorak AM, Schwartz LB, Irani AM, Burdick JF et al. Development of human mast cells *in vitro*. Proc Natl Acad Sci USA 1989;86:10039-10043.
8. Valent P, Spanblöchl E, Sperr WR, Sillaber C, Zsebo KM, Agis H et al. Induction of differentiation of human mast cells from bone marrow and peripheral blood mononuclear cells by recombinant human stem cell factor/*kit*-ligand in long-term culture. Blood 1992;80:2237-2245.
9. Fodinger M, Fritsch G, Winkler K, Emminger W, Mitterbauer G, Gadner H et al. Origin of human mast cells: development from transplanted hematopoietic stem cells after allogeneic bone marrow transplantation. Blood 1994;84:2954-2959.

10. Rodewald HR, Dessing M, Dvorak AM, Galli SJ. Identification of a committed precursor for the mast cell lineage. *Science* 1996;271:818-822.
11. Matarraz S, Lopez A, Barrena S, Fernandez C, Jensen E, Flores J et al. The immunophenotype of different immature, myeloid and B-cell lineage-committed CD34+ hematopoietic cells allows discrimination between normal/reactive and myelodysplastic syndrome precursors. *Leukemia* 2008;22:1175-1183.
12. Kitamura Y, Shimada M, Hatanaka K, Miyano Y. Development of mast cells from grafted bone marrow cells in irradiated mice. *Nature* 1977;268:442-443.
13. Kitamura Y, Matsuda H, Hatanaka K. Clonal nature of mast cells clusters formed in W/W mice after bone marrow trasplant. *Nature* 1979;281:154-155.
14. Tkaczyk C, Jensen BM, Iwaki S, Gilfillan AM. Adaptive and innate immune reactions regulating mast cell activation: from receptor-mediated signaling to responses. *Immunol Allergy Clin.North Am* 2006;26:427-450.
15. Rao KN, Brown MA. Mast cells: multifaceted immune cells with diverse roles in health and disease. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1143:83-104.
16. Yarden Y, Kuang WJ, Yang Feng T, Coussens L, Munemitsu S, Dull TJ et al. Human proto-oncogene c-kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO J* 1987;6:3341-3351.
17. Simmons PJ, Aylett GW, Niutta S, To LB, Juttner CA, Ashman LK. *c-kit* Is expressed by primitive human hematopoietic cells that give rise to colony-forming cells in stroma-dependent or cytokine-supplemented culture. *Exp Hematol* 1994;22:157-165.
18. Metcalfe DD, Mekori JA, Rottem M. Mast cell ontogeny and apoptosis. *Exp Dermatol* 1995;4:227-230.
19. Huizinga JD, Thuneberg L, Kluppel M, Malysz J, Mikkelsen HB, Bernstein A. *W/kit* gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity. *Nature* 1995;373:347-349.
20. Halaban R, Tyrrell L, Longley J, Yarden Y, Rubin J. Pigmentation and proliferation of human melanocytes and the effects of melanocyte-stimulating hormone and ultraviolet B light. *Ann N Y Acad Sci* 1993;680:290-301.:290-301.

21. Strohmeyer T, Peter S, Hartmann M, Munemitsu S, Ackermann R, Ullrich A et al. Expression of the hst-1 and c-kit protooncogenes in human testicular germ cell tumors. *Cancer Res* 1991;51:1811-1816.
22. Andersson J, Sjogren H, Meis-Kindblom JM, Stenman G, Aman P, Kindblom LG. The complexity of KIT gene mutations and chromosome rearrangements and their clinical correlation in gastrointestinal stromal (pacemaker cell) tumors. *Am J Pathol* 2002;160:15-22.
23. Strohmeyer T, Reese D, Press M, Ackermann R, Hartmann M, Slamon D. Expression of the c-kit proto-oncogene and its ligand stem cell factor (SCF) in normal and malignant human testicular tissue. *J Urol* 1995;153:511-515.
24. Sekido Y, Obata Y, Ueda R, Hida T, Suyama M, Shimokata K. Preferential expression of c-kit protooncogene transcripts in small cell lung cancer. *Cancer Res* 1991;51:2416-2419.
25. Toyota M, Hinoda Y, Takaoka A, Makiguchi Y, Takahashi T, Itoh F et al. Expression of *c-kit* and *kit* ligand in human colon carcinoma cells. *Tumor Biol.* 1993;14:295-302.
26. Beck D, Gross N, Beretta Brognara C. Effects of stem cell factor and other bone marrow-derived growth factors on the expression of adhesion molecules and proliferation of human neuroblastoma cells. *Eur J Cancer [A]* 1995;31A:467-470.
27. Hines SJ, Organ C, Kornstein MJ, Krystal GW. Coexpression of the c-kit and stem cell factor genes in breast carcinomas. *Cell Growth Differ* 1995;6:769-779.
28. Bene MC, Bernier M, Casasnovas RO, Castoldi G, Knapp W, Lanza F et al. The reliability and specificity of c-kit for the diagnosis of acute myeloid leukemias and undifferentiated leukemias. The European Group for the Immunological Classification of Leukemias (EGIL). *Blood* 1998;92:596-599.
29. Ocqueteau M, Orfao A, García-Sanz R, Almeida J, Gonzalez M, San Miguel JF. Expression of the CD117 antigen (C-Kit) on normal and myelomatous plasma cells. *Br J Haematol* 1996;95:489-493.
30. Orfao A, Ortuño F, de Santiago M, Lopez A, Miguel JS. Immunophenotyping of acute leukemias and myelodysplastic syndromes. *Cytometry* 2004;58A:62-71.

31. Nakata Y, Kimura A, Katoh O, Kawaishi K, Hyodo H, Abe K et al. *c-kit* point mutation of extracellular domain in patients with myeloproliferative disorders. *Br J Haematol* 1995;91:661-663.
32. Bravo P, Agustin BD, Bellas C, González D, Cámara C, Fuertes IF et al. Expression of high amounts of the CD117 molecule in a case of B-cell non-Hodgkin's lymphoma carrying the t(14:18) translocation. *Am J Hematol* 2000;63:226-229.
33. Orfao A, Garcia-Montero AC, Sanchez L, Escribano L. Recent advances in the understanding of mastocytosis: the role of KIT mutations. *Br J Haematol* 2007;138:12-30.
34. Blume-Jensen P, Claesson-Welsh L, Siegbahn A, Zsebo KM, Westermarck B, Heldin CH. Activation of the human c-kit product by ligand-induced dimerization mediates circular actin reorganization and chemotaxis. *EMBO J* 1991;10:4121-4128.
35. Zhang Z, Zhang R, Joachimiak A, Schlessinger J, Kong XP. Crystal structure of human stem cell factor: implication for stem cell factor receptor dimerization and activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:7732-7737.
36. Hubbard SR. Juxtamembrane autoinhibition in receptor tyrosine kinases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004;5:464-471.
37. Mol CD, Dougan DR, Schneider TR, Skene RJ, Kraus ML, Scheibe DN et al. Structural basis for the autoinhibition and STI-571 inhibition of c-Kit tyrosine kinase. *J Biol Chem* 2004;279:31655-31663.
38. Galli SJ, Tsai M, Wershil BK, Tam S-Y, Costa JJ. Regulation of mouse and human mast cell development, survival and function by stem cell factor, the ligand for the *c-kit* receptor. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107:51-53.
39. Irani AA, Schechter NM, Craig SS, DeBlois G, Schwartz LB. Two types of human mast cells that have distinct neutral protease compositions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:4464-4468.
40. Weidner N, Austen KF. Evidence for morphologic diversity of human mast cells: An ultrastructural study of mast cells from multiple body sites. *Lab Invest* 1990;63:63-72.

41. Li L, Krilis SA. Conditioned media obtained from a human mastocytosis cell strain induce mast cells expressing chymase but not tryptase from human progenitors. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;113:289-290.
42. Horny HP, Greschniok A, Jordan JH, Menke DM, Valent P. Chymase expressing bone marrow mast cells in mastocytosis and myelodysplastic syndromes: an immunohistochemical and morphometric study. *J Clin Pathol* 2003;56:103-106.
43. Metcalfe DD. Mast cells and mastocytosis. *Blood* 2008;112:946-956.
44. Escribano L, Diaz-Agustin B, Núñez R, Prados A, Rodríguez R, Orfao A. Abnormal expression of CD antigens in mastocytosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;127:127-132.
45. Escribano L, Diaz-Agustin B, López A, Núñez López R, García-Montero A, Almeida J et al. Immunophenotypic analysis of mast cells in mastocytosis: When and how to do it. Proposals of the Spanish network on mastocytosis (REMA). *Cytometry B Clin Cytom* 2004;58B:1-8.
46. Escribano L, Garcia Montero AC, Nunez R, Orfao A. Flow cytometric analysis of normal and neoplastic mast cells: role in diagnosis and follow-up of mast cell disease. *Immunol.Allergy Clin North Am* 2006;26:535-547.
47. Orfao A, Escribano L, Villarrubia J, Velasco JL, Cerveró C, Ciudad J et al. Flow cytometric analysis of mast cells from normal and pathological human bone marrow samples. Identification and enumeration. *Am J Pathol* 1996;149:1493-1499.
48. Escribano L, Orfao A, Villarrubia J, Díaz-Agustín B, Cerveró C, Rios A et al. Immunophenotypic characterization of human bone marrow mast cells. A flow cytometric study of normal and pathological bone marrow samples. *An Cell Pathol* 1998;16:151-159.
49. Escribano L, Orfao A, Diaz-Agustin B, Villarrubia J, Cerveró C, López A et al. Indolent systemic mast cell disease in adults: immunophenotypic characterization of bone marrow mast cells and its diagnostic implications. *Blood* 1998;91:2731-2736.

50. Sanchez-Munoz L, Teodosio C, Morgado JM, Escribano L. Immunophenotypic characterization of bone marrow mast cells in mastocytosis and other mast cell disorders. *Methods Cell Biol* 2011;103:333-359.
51. Cerveró C, Escribano L, San Miguel JF, Díaz-Agustín B, Bravo P, Villarrubia J et al. Expression of bcl-2 by human bone marrow mast cells and its overexpression in mast cell leukemia. *Am J Hematol* 1999;60:191-195.
52. Nuñez-López R, Escribano L, Schernthaner GH, Prados A, Rodríguez-González R, Díaz-Agustín B et al. Overexpression of complement receptors and related antigens on the surface of bone marrow mast cells in patients with systemic mastocytosis. *Br J Haematol* 2002;120:257-265.
53. Teodosio C, Garcia-Montero AC, Jara-Acevedo M et al. Mast cells from different molecular and prognostic subtypes of systemic mastocytosis display distinct immunophenotypes. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:719-726.
54. Costa JJ, Weller PF, Galli SJ. The cells of the allergic response - Mast cells, basophils, and eosinophils. *Journal of the American Medical Association* 1997;278:1815-1822.
55. Malaviya R, Abraham SN. Clinical implications of mast cell-bacteria interaction. *J Mol Med* 1998;76:617-623.
56. Metz M, Maurer M. Mast cells--key effector cells in immune responses. *Trends Immunol* 2007;28:234-241.
57. Henz BM, Maurer M, Lippert U, Worm M, Babina M. Mast cells as initiators of immunity and host defense. *Exp Dermatol*. 2001;10:1-10.
58. Pietravalle F, Lecoanet-Henchoz S, Blasey H, Aubry JP, Elson G, Edgerton MD et al. Human native soluble CD40L is a biologically active trimer, processed inside microsomes. *J Biol Chem* 1996;271:5965-5967.
59. Gauchat JF, Henchoz S, Mazzei G, Aubry JP, Brunner T, Blasey H et al. Induction of human IgE synthesis in B cells by mast cells and basophils. *Nature* 1993;365:340-343.
60. Maurer M, Theoharides T, Granstein RD, Bischoff SC, Bienenstock J, Henz B et al. What is the physiological function of mast cells? *Exp Dermatol* 2003;12:886-910.

61. Meininger CJ, Zetter BR. Mast cells and angiogenesis. *Semin Cancer Biol* 1992;3:73-79.
62. Metzger H. The high affinity receptor for IgE on mast cells. *Clin Exp Allergy* 1991;21:269-279.
63. Tkaczyk C, Okayama Y, Woolhiser MR, Hagaman DD, Gilfillan AM, Metcalfe DD. Activation of human mast cells through the high affinity IgG receptor. *Mol Immunol* 2002;38:1289-1293.
64. Nilsson G, Johnell M, Hammer CH, Tiffany HL, Nilsson K, Metcalfe DD et al. C3a and C5a are chemotaxins for human mast cells and act through distinct receptors via a pertussis toxin-sensitive signal transduction pathway. *J Immunol* 1996;157:1693-1698.
65. Nilsson G, Forsberg-Nilsson K, Xiang Z, Hallböök F, Nilsson K, Metcalfe DD. Human mast cells express functional TrkA and are a source of nerve growth factor. *Eur J Immunol* 1997;27:2295-2301.
66. Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol* 2001;2:675-680.
67. Riley JF, West GB. The presence of histamine in tissue mast cells. *J Physiol(Lond)* 1953;120:528-537.
68. Schwartz LB. Clinical utility of tryptase levels in systemic mastocytosis and associated hematologic disorders. *Leuk Res* 2001;25:553-562.
69. Caughey GH, Raymond WW, Wolters PJ. Angiotensin II generation by mast cell α - and β -chymases. *Biochim Biophys Acta Protein Struct Mol Enzymol* 2000;1480:245-257.
70. Irani A-MA, Goldstein SM, Wintroub BU, Bradford T, Schwartz LB. Human mast cell carboxypeptidase: Selective localization to MC_{TC} cells. *J Immunol* 1991;147:247-253.
71. Nugent MA, Iozzo RV. Fibroblast growth factor-2. *Int J Biochem Cell Biol* 2000;32:115-120.
72. Gordon JR, Galli SJ. Release of both preformed and newly synthesized tumor necrosis factor α (TNF- α)/cachectin by mouse mast cells stimulated via

- the Fc epsilon RI. A mechanism for the sustained action of mast cell-derived TNF-alpha during IgE-dependent biological responses. *J Exp Med* 1991;174:103-107.
73. Joris I, Majno G, Corey EJ, Lewis RA. The mechanism of vascular leakage induced by leukotriene E4. Endothelial contraction. *Am J Pathol* 1987;126:19-24.
74. Penrose JF, Gagnon L, Goppelt-Struebe M, Myers P, Lam BK, Jack RM et al. Purification of human leukotriene C4 synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:11603-11606.
75. Benyon RC, Robinson C, Church MK. Differential release of histamine and eicosanoids from human skin mast cells activated by IgE-dependent and non-immunological stimuli. *Br J Pharmacol* 1989;97:898-904.
76. Barnes PJ, Chung KF, Page CP. Platelet-activating factor as a mediator of allergic disease. *J Allergy Clin.Immunol* 1988;81:919-934.
77. Bradding P, Roberts JA, Britten KM, Montefort S, Djukanovic R, Mueller R et al. Interleukin-4, -5, and -6 and tumor necrosis factor-alpha in normal and asthmatic airways: evidence for the human mast cell as a source of these cytokines. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994;10:471-480.
78. Kobayashi H, Okayama Y, Ishizuka T, Pawankar R, Ra C, Mori M. Production of IL-13 by human lung mast cells in response to Fce receptor cross-linkage. *Clin ExpAllergy* 1998;28:1219-1227.
79. Gordon JR. TGFb1 and TNFa secreted by mast cells stimulated via the FceRI activate fibroblasts for high-level production of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-I). *Cell Immunol* 2000;201:42-49.
80. Glenner GG, Cohen LA. Histochemical demonstration of a species-specific trypsin-like enzyme in mast cells. *Nature* 1960;185:846-847.
81. Schwartz LB, Lewis RA, Seldin D, Austen KF. Acid hydrolases and tryptase from secretory granules of dispersed human lung mast cells. *J Immunol* 1981;126:1290-1294.
82. Castells M, Irani AM, Schwartz LB. Evaluation of human peripheral blood leukocytes for mast cell tryptase. *J Immunol* 1987;138:2184-2189.

83. Miller JS, Westin EH, Schwartz LB. Cloning and characterization of complementary DNA for human tryptase. *J Clin Invest* 1989;84:1188-1195.
84. Miller JS, Moxley G, Schwartz LB. Cloning and characterization of a second complementary DNA for human tryptase. *J Clin Invest* 1990;86:864-870.
85. Pallaoro M, Fejzo MS, Shayesteh L, Blount JL, Caughey GH. Characterization of genes encoding known and novel human mast cell tryptases on chromosome 16p13.3. *J Biol Chem* 1999;274:3355-3362.
86. Caughey GH, Raymond WW, Blount JL, Hau LW, Pallaoro M, Wolters PJ et al. Characterization of human gamma-tryptases, novel members of the chromosome 16p mast cell tryptase and prostatic gene families. *J Immunol* 2000;164:6566-6575.
87. Caughey GH. Tryptase genetics and anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1411-1414.
88. Huang C, Li L, Krilis SA, Chanasyk K, Tang Y, Li Z et al. Human tryptases alpha and beta/II are functionally distinct due, in part, to a single amino acid difference in one of the surface loops that forms the substrate-binding cleft. *J Biol Chem* 1999;274:19670-19676.
89. Marquardt U, Zettl F, Huber R, Bode W, Sommerhoff C. The crystal structure of human alpha1-tryptase reveals a blocked substrate-binding region. *J Mol Biol* 2002;321:491-502.
90. Jogie-Brahim S, Min HK, Fukuoka Y, Xia HZ, Schwartz LB. Expression of alpha-tryptase and beta-tryptase by human basophils. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:1086-1092.
91. Schwartz LB, Bradford TR, Littman BH, Wintroub BU. The fibrinogenolytic activity of purified tryptase from human lung mast cells. *J Immunol* 1985;135:2762-2767.
92. Schwartz LB, Bradford TR, Rouse C, Irani AM, Rasp G, Van der Zwan JK et al. Development of a new, more sensitive immunoassay for human tryptase: Use in systemic anaphylaxis. *J Clin Immunol* 1994;14:190-204.

93. Caughey GH. Roles of mast cell tryptase and chymase in airway function. *Am J Physiol* 1989;257:L39-L46.
94. Tam EK, Caughey GH. Degradation of airway neuropeptides by human lung tryptase. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990;3:27-32.
95. Yasuda S, Morokawa N, Wong GW, Rossi A, Madhusudhan MS, Sall A et al. Urokinase-type plasminogen activator is a preferred substrate of the human epithelium serine protease tryptase epsilon/PRSS22. *Blood* 2005;105:3893-3901.
96. Gruber BL, Marchese MJ, Suzuki K, Schwartz LB, Okada Y, Nagase H et al. Synovial procollagenase activation by human mast cell tryptase dependence upon matrix metalloproteinase 3 activation. *J Clin Invest* 1989;84:1657-1662.
97. Ruoss SJ, Hartmann T, Caughey GH. Mast cell tryptase is a mitogen for cultured fibroblasts. *J Clin Invest* 1991;88:493-499.
98. Gruber BL, Kew RR, Jelaska A, Marchese MJ, Garlick J, Ren S et al. Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis. *J Immunol* 1997;158:2310-2317.
99. Walls AF, He S, Teran LM, Buckley MG, Jung KS, Holgate ST et al. Granulocyte recruitment by human mast cell tryptase. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107:372-373.
100. He S, Peng Q, Walls AF. Potent induction of a neutrophil and eosinophil-rich infiltrate in vivo by human mast cell tryptase: selective enhancement of eosinophil recruitment by histamine. *J Immunol* 1997;159:6216-6225.
101. Huang C, Friend DS, Qiu WT, Wong GW, Morales G, Hunt J et al. Induction of a selective and persistent extravasation of neutrophils into the peritoneal cavity by tryptase mouse mast cell protease 6. *J Immunol* 1998;160:1910-1919.
102. He SH, Walls AF. Human mast cell tryptase: A stimulus of microvascular leakage and mast cell activation. *Eur J Pharmacol* 1997;328:89-97.

103. Blair RJ, Meng H, Marchese MJ, Ren S, Schwartz LB, Tonnesen MG et al. Human mast cells stimulate vascular tube formation. Tryptase is a novel, potent angiogenic factor. *J Clin Invest* 1997;99:2691-2700.
104. Valent P, Horny HP, Escribano L, Longley BJ, Li CY, Schwartz LB et al. Diagnostic criteria and classification of mastocytosis: a consensus proposal. *Leuk Res* 2001;25:603-625.
105. Valent P, Horny HP, Li CY, Longley BJ, Metcalfe DD, Parwaresch MR et al. Mastocytosis (mast cell disease). In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, eds. World Health Organization (WHO) classification of tumours. Pathology & genetics. Tumours of haematopoietic and lymphoid Tissues. Vol 1. Lyon, France: IARC Press; 2001:291-302.
106. Horny HP, Metcalfe DD, Bennet JM, Bain BJ, Akin C, Escribano L et al. Mastocytosis. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al., eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008:54-63.
107. Sanchez-Munoz L, Alvarez-Twose I, Garcia-Montero AC, Teodosio C, Jara-Acevedo M, Pedreira CE et al. Evaluation of the WHO criteria for the classification of patients with mastocytosis. *Mod Pathol* 2011;24:1157-1168.
108. Escribano L, Navalón R, Núñez R, Díaz Agustín B, Bravo P. Flow cytometry immunophenotypic analysis of human mast cells. In: Robinson JP, Darzynkiewicz Z, Dean P, Orfao A, Rabinovitch P, Wheelless L, eds. Current protocols in cytometry. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 2000:6.6.1-6.6.18.
109. de la Hoz B, Gonzalez de OD, Alvarez I, Sánchez L, Núñez R, Sánchez I et al. Guidelines for the diagnosis, treatment and management of mastocytosis. *An Sist Sanit Navar* 2008;31:11-32.
110. Nagata H, Worobec AS, Oh CK, Chowdhury BA, Tannenbaum S, Suzuki Y et al. Identification of a point mutation in the catalytic domain of the protooncogene *c-kit* in peripheral blood mononuclear cells of patients who have mastocytosis with an associated hematologic disorder. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:10560-10564.

111. Sperr W, Escribano L, Jordan JH, Schernthaner GH, Kundi M, Horny HP et al. Morphologic properties of neoplastic mast cells: delineation of stages of maturation and implication for cytological grading of mastocytosis. *Leuk Res* 2001;25:529-536.
112. Horny HP, Sillaber C, Menke D, Kaiserling E, Wehrmann M, Stehberger B et al. Diagnostic value of immunostaining for tryptase in patients with mastocytosis. *Am J Surg Pathol* 1998;22:1132-1140.
113. Sotlar K, Horny HP, Simonitsch I, Krokowski M, Aichberger KJ, Mayerhofer M et al. CD25 indicates the neoplastic phenotype of mast cells: a novel immunohistochemical marker for the diagnosis of systemic mastocytosis (SM) in routinely processed bone marrow biopsy specimens. *Am J Surg Pathol* 2004;28:1319-1325.
114. Escribano L, Díaz-Agustín B, Bellas C, Navalón R, Núñez R, Sperr WR et al. Utility of flow cytometric analysis of mast cells in the diagnosis and classification of adult mastocytosis. *Leuk Res* 2001;25:563-570.
115. Garcia-Montero AC, Jara-Acevedo M, Teodosio C, Sanchez ML, Nunez R, Prados A et al. KIT mutation in mast cells and other bone marrow haematopoietic cell lineages in systemic mast cell disorders. A prospective study of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA) in a series of 113 patients. *Blood* 2006;108:2366-2372.
116. Alvarez-Twose I, Morgado JM, Sánchez-Muñoz L, García-Montero AC, Mollejo M, Orfao A et al. Current state of biology and diagnosis of clonal mast cell diseases in adults. *Int J Lab Hematol* 2012;34:445-460.
117. Escribano L, Garcia-Montero A, Sanchez-Munoz L, Teodosio C, Alvarez-Twose I, Jara-Acevedo M et al. Diagnosis of adult mastocytosis: role for bone marrow analysis. In: Kottke-Marchant K, Davis B, eds. *Laboratory Hematology Practice*. London: Wiley-Blackwell; 2012:388-398.
118. Valent P, Akin C, Escribano L, Födinger M, Hartmann K, Brockow K et al. Standards and standardization in mastocytosis: consensus statements on diagnostics, treatment recommendations and response criteria. *Eur J Clin Invest* 2007;37:435-453.

119. Alvarez-Twose I, González de Olano D, Sánchez-Muñoz L, Matito A, Esteban-López MI, Vega A et al. Clinical, biological and molecular characteristics of systemic mast cell disorders presenting with severe mediator-related symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:1269-1278.
120. Escribano L, Orfao A, Villarrubia J, Cerveró C, Velasco JL, Martín F et al. Expression of lymphoid-associated antigens in mast cells: Report of a case of systemic mast cell disease. *Br J Haematol*. 1995;91:941-943.
121. Escribano L, Orfao A, Villarrubia J, Martín F, Madruga JL, Cuevas M et al. Sequential immunophenotypic analysis of mast cells in a case of systemic mast cell disease evolving to a mast cell leukemia. *Cytometry* 1997;30:98-102.
122. Debatin KM, Woodroffe C, Lahm H, Fischer J, Falk W, Brandeis WE et al. Lack of interleukin-2 (IL-2) dependent growth of TAC positive T-ALL/NHL cells is due to the expression of only low affinity receptors for IL-2. *Leukemia* 1989;3:566-571.
123. Minami Y, Kono T, Yamada K, Taniguchi T. The interleukin-2 receptors: insights into a complex signalling mechanism. *Biochim Biophys Acta* 1992;1114:163-177.
124. Minami Y, Kono T, Miyazaki T, Taniguchi T. The IL-2 receptor complex: its structure, function, and target genes. *Annu Rev Immunol* 1993;11:245-268.
125. Klion AD, Noel P, Akin C, Law MA, Gilliland DG, Cools J et al. Elevated serum tryptase levels identify a subset of patients with a myeloproliferative variant of idiopathic hypereosinophilic syndrome associated with tissue fibrosis, poor prognosis, and imatinib responsiveness. *Blood* 2003;101:4660-4666.
126. Morgado JM, Sanchez-Munoz L, Teodosio CG, Jara-Acevedo M, Alvarez-Twose I, Matito A et al. Immunophenotyping in systemic mastocytosis diagnosis: 'CD25 positive' alone is more informative than the 'CD25 and/or CD2' WHO criterion. *Mod Pathol* 2012;25:516-521.
127. Diaz-Agustin B, Escribano L, Bravo P, Herrero S, Nuñez R, Navalón R et al. The CD69 early activation molecule is overexpressed in human bone marrow mast cells from adults with indolent systemic mast cell disease. *Br J Haematol* 1999;106:400-405.

128. Escribano L, Orfao A, Díaz Agustín B, Cerveró C, Herrero S, Villarrubia J et al. Human bone marrow mast cells from indolent systemic mast cell disease constitutively express increased amounts of the CD63 protein on their surface. *Cytometry* 1998;34:223-228.
129. Teodosio C, Garcia-Montero AC, Jara-Acevedo M, Alvarez-Twose I, Sánchez-Muñoz L, Almeida J et al. An immature immunophenotype of bone marrow mast cells predicts for multilineage D816V KIT mutation in systemic mastocytosis. *Leukemia* 2012;26:951-958.
130. Sotlar K, Escribano L, Landt O, Möhrle S, Herrero S, Torrelo A et al. One-Step Detection of c-kit Point Mutations Using PNA-Mediated PCR-Clamping and Hybridization Probes. *Am J Pathol* 2003;162:737-746.
131. Longley BJ, Jr, Metcalfe DD, Tharp M, Wang X, Tyrrell L, Lu SZ et al. Activating and dominant inactivating c-KIT catalytic domain mutations in distinct clinical forms of human mastocytosis. *Proc Natl Acad Sci.USA* 1999;96:1609-1614.
132. Jara-Acevedo M, García-Montero A, Teodosio C, Escribano L, Alvarez I, Sánchez-Muñoz L et al. Well-differentiated systemic mastocytosis (WDSM): a novel form of mastocytosis. *Haematologica* 2008;93:91.
133. Pullarkat VA, Bueso-Ramos C, Lai R, Kroft S, Wilson CS, Pullarkat ST et al. Systemic mastocytosis with associated clonal hematological non-mast-cell lineage disease: analysis of clinicopathologic features and activating *c-kit* mutations. *Am J Hematol* 2003;73:12-17.
134. Pignon JM, Giraudier S, Duquesnoy P, Jouault H, Imbert M, Vainchenker W et al. A new *c-kit* mutation in a case of aggressive mast cell disease. *Br J Haematol* 1997;96:374-376.
135. Akin C, Fumo G, Yavuz AS, Lipsky PE, Neckers L, Metcalfe DD. A novel form of mastocytosis associated with a transmembrane c-kit mutation and response to imatinib. *Blood* 2004;103:3222-3225.
136. Hartmann K, Wardelmann E, Ma YS, Merkelbach-Bruse S, Preussner LM, Woolery C et al. Novel germline mutation of *KIT* associated with familial

- gastrointestinal stromal tumors and mastocytosis. *Gastroenterology* 2005;129:1042-1046.
137. Zhang LY, Smith ML, Schultheis B, Fitzgibbon J, Lister TA, Melo JV et al. A novel K509I mutation of *KIT* identified in familial mastocytosis-in vitro and in vivo responsiveness to imatinib therapy. *Leuk Res* 2006;30:373-378.
 138. Tang X, Boxer M, Drummond A, Ogston P, Hodgins M, Burden AD. A germline mutation in *KIT* in familial diffuse cutaneous mastocytosis. *J Med Genet* 2004;41:e88.
 139. Nakagomi N, Hirota S. Juxtamembrane-type c-kit gene mutation found in aggressive systemic mastocytosis induces imatinib-resistant constitutive *KIT* activation. *Lab Invest* 2007;87:365-371.
 140. Furitsu T, Tsujimura T, Tono T, Ikeda H, Kitayama H, Koshimizu U et al. Identification of mutations in the coding sequence of the proto-oncogene *c-kit* in a human mast cell leukemia cell line causing ligand-independent activation of *c-kit* product. *J Clin Invest* 1993;92:1736-1744.
 141. Escribano L, Alvarez-Twose I, Sanchez-Munoz L, García-Montero A, Núñez R, Almeida J et al. Prognosis in adult indolent systemic mastocytosis: A long-term study of the Spanish Network on Mastocytosis in a series of 145 patients. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:514-521.
 142. Schwartz LB, Metcalfe DD, Miller JS, Earl H, Sullivan T. Tryptase levels as an indicator of mast-cell activation in systemic anaphylaxis and mastocytosis. *N Engl J Med* 1987;316:1622-1626.
 143. Schwartz LB, Sakai K, Bradford TR, Ren S, Zweiman B, Worobec AS et al. The alpha form of human tryptase is the predominant type present in blood at baseline in normal subjects and is elevated in those with systemic mastocytosis. *J Clin Invest* 1995;96:2702-2710.
 144. Sperr WR, Jordan JH, Fiegl M, Escribano L, Bellas C, Dirnhofer S et al. Serum tryptase levels in patients with mastocytosis: Correlation with mast cell burden and implication for defining the category of disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;128:136-141.

145. Schwartz LB. Diagnostic value of tryptase in anaphylaxis and mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2006;26:451-463.
146. Sperr WR, El-Samahi A, Kundi M, Girschikofsky M, Winkler S, Lutz D et al. Elevated tryptase levels selectively cluster in myeloid neoplasms: a novel diagnostic approach and screen marker in clinical haematology. *Eur J Clin Invest* 2009;39:914-923.
147. Escribano L, García-Belmonte D, Hernández-González A, Otheo E, Núñez R, Vázquez JL et al. Successful management of a case of diffuse cutaneous mastocytosis with recurrent anaphylactoid episodes and hypertension. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:S335.
148. Alvarez-Twose I, Vañó-Galván S, Sánchez-Muñoz L, Morgado JM, Matito A, Torrelo A et al. Increased serum baseline tryptase levels and extensive skin involvement are predictors for the severity of mast cell activation episodes in children with mastocytosis. *Allergy* 2012;67:813-821.
149. Kushnir-Sukhov NM, Brittain E, Reynolds JC, Akin C, Metcalfe DD. Elevated tryptase levels are associated with greater bone density in a cohort of patients with mastocytosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2006;139:265-270.
150. Schwartz LB, Yunginger JW, Miller J, Bokhari R, Dull D. Time course of appearance and disappearance of human mast cell tryptase in the circulation after anaphylaxis. *J Clin Invest* 1989;83:1551-1555.
151. Van der Linden P-WG, Hack CE, Poortman J, Vivié-KippYC, Struyvenberg A, van der Zwan JK. Insect-sting challenge in 138 patients: relation between clinical severity of anaphylaxis and mast cell activation. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:110-118.
152. Haeberli G, Brönnimann M, Hunziker T, Müller U. Elevated basal serum tryptase and hymenoptera venom allergy: relation to severity of sting reactions and to safety and efficacy of venom immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1216-1220.

153. Sperr WR, Jordan JH, Baghestanian M, Kiener HP, Samorapoompichit P, Semper H et al. Expression of mast cell tryptase by myeloblasts in a group of patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2001;98:2200-2209.
154. Sperr WR, Stehberger B, Wimazal F, Baghestanian M, Schwartz LB, Kundi M et al. Serum tryptase measurements in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma* 2002;43:1097-1105.
155. Valent P, Agis H, Sperr W, Sillaber C, Horny HP. Diagnostic and prognostic value of new biochemical and immunohistochemical parameters in chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2008;49:635-638.
156. Ferrer M, Núñez-Córdoba JM, Luquin E, Grattan CE, De la Borbolla JM, Sanz ML et al. Serum total tryptase levels are increased in patients with active chronic urticaria. *Clin Exp Allergy* 2010;40:1760-1766.
157. Simon MR, Jan M, Yee J, Nori US, Hu J, Akin C et al. Tryptase Is Not Cleared by the Kidneys into the Urine. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;152:28-31.
158. Gonzalez-Quintela A, Vizcaino L, Gude F, Rey J, Meijide L, Fernandez-Merino C et al. Factors influencing serum total tryptase concentrations in a general adult population. *Clin Chem Lab Med* 2010;48:701-706.
159. Akin C, Valent P, Metcalfe DD. Mast cell activation syndrome: Proposed diagnostic criteria. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:1099-1104.
160. Valent P, Akin C, Arock M, Brockow K, Butterfield JH, Carter MC et al. Definitions, criteria and global classification of mast cell disorders with special reference to mast cell activation syndromes: a consensus proposal. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;157:215-225.
161. Akin C, Metcalfe DD. Occult bone marrow mastocytosis presenting as recurrent anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:S206.
162. Sonneck K, Florian S, Müllauer L, Wimazal F, Födinger M, Sperr WR et al. Diagnostic and subdiagnostic accumulation of mast cells in the bone marrow of patients with anaphylaxis: monoclonal mast cell activation syndrome. *Int Arch Allergy Immunol* 2006;142:158-164.

163. Akin C, Scott LM, Kocabas CN, Kushnir-Sukhov N, Brittain E, Noel P et al. Demonstration of an aberrant mast cell population with clonal markers in a subset of patients with "idiopathic" anaphylaxis. *Blood* 2007;110:2331-2333.
164. Kassab D, Koterba A, Jiang Y, Akin C. Elevated baseline tryptase levels in patients with mast cell activation syndromes without evidence of mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:S67.
165. Bonadonna P, Zanotti R, Caruso B, Castellani L, Perbellini O, Colarossi S et al. Allergen specific immunotherapy is safe and effective in patients with systemic mastocytosis and Hymenoptera allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:256-257.
166. González de Olano D, Alvarez-Twose I, Esteban-López MI, Sánchez-Muñoz L, de Durana MD, Vega A et al. Safety and effectiveness of immunotherapy in patients with indolent systemic mastocytosis presenting with Hymenoptera venom anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:519-526.
167. Bonadonna P, Perbellini O, Passalacqua G, Caruso B, Colarossi S, Dal Fior D et al. Clonal mast cell disorders in patients with systemic reactions to Hymenoptera stings and increased serum tryptase levels. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:680-686.
168. Bonadonna P, Zanotti R, Pagani M, Caruso B, Perbellini O, Colarossi S et al. How much specific is the association between hymenoptera venom allergy and mastocytosis? *Allergy* 2009;64:1379-1382.
169. Bonadonna P, Zanotti R, Müller U. Mastocytosis and insect venom allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010
170. Rueff F, Przybilla B, Bilo MB, Müller U, Scheipl F, Aberer W et al. Predictors of severe systemic anaphylactic reactions in patients with Hymenoptera venom allergy: importance of baseline serum tryptase-a study of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:1047-1054.

171. Guenova E, Volz T, Eichner M, Hoetzenecker W, Caroli U, Griesinger G et al. Basal serum tryptase as risk assessment for severe Hymenoptera sting reactions in elderly. *Allergy* 2010;65:919-23.
172. Gonzalez de Olano D, Alvarez-Twose I, Vega A, Orfao A, Escribano L. Venom immunotherapy in patients with mastocytosis and hymenoptera venom anaphylaxis. *Immunotherapy* 2011;3:637-651.
173. Jordan JH, Fritsche-Polanz R, Sperr WR, Mitterbauer G, Födinger M, Schernthaner GH et al. A case of 'smouldering' mastocytosis with high mast cell burden, monoclonal myeloid cells, and C-KIT mutation Asp-816-Val. *Leuk Res* 2001;25:627-634.
174. Metcalfe DD. Clinical advances in mastocytosis: an interdisciplinary roundtable discussion. *J Invest Dermatol* 1991;96:1S-65S.
175. Metcalfe DD. Classification and diagnosis of mastocytosis: current status. *J Invest Dermatol* 1991;96:2S-4S.
176. Escribano L, Akin C, Castells M, Schwartz LB. Current options in the treatment of mast cell mediator-related symptoms in mastocytosis. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2006;5:61-77.
177. González de Olano D, de la Hoz Caballer B, Núñez López R, Sánchez Muñoz L, Cuevas Agustín M, Diéguez MC et al. Prevalence of allergy and anaphylactic symptoms in 210 adult and pediatric patients with mastocytosis in Spain: a study of the Spanish network on mastocytosis (REMA). *Clin Exp Allergy* 2007;37:1547-1555.
178. Brockow K, Jofer C, Behrendt H, Ring J. Anaphylaxis in patients with mastocytosis: a study on history, clinical features and risk factors in 120 patients. *Allergy* 2008;63:226-232.
179. Horan RF, Austen KF. Systemic mastocytosis: retrospective review of a decade's clinical experience at the Brigham and Women's Hospital. *J Invest Dermatol*. 1991;96:5S-13S.
180. Travis WD, Li CY, Hoagl HC, Travis LB, Banks PM. Mast cell leukemia: report of a case and review of the literature. *Mayo Clin Proc* 1986;61:957-966.

181. Travis WD, Li CY, Bergstralh EJ, Yam LT, Swee RG. Systemic mast cell disease. Analysis of 58 cases and literature review. *Medicine* 1988;67:345-368.
182. Travis WD, Li CY, Yam LT, Bergstralh EJ, Swee RG. Significance of systemic mast cell disease with associated hematologic disorders. *Cancer* 1988;62:965-972.
183. Escribano L, Akin C, Castells M, Orfao A, Metcalfe D. Mastocytosis: Current concepts in diagnosis and treatment. *Ann Hematol* 2002;81:677-690.
184. Kanis JA. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO report. WHO Study Group. *Osteoporos Int* 1994;4:368-381.
185. Miller PD. Guidelines for the diagnosis of osteoporosis: T-scores vs fractures. *Rev Endocr Metab Disord* 2006;7:75-89.
186. Horny HP, Valent P. Diagnosis of mastocytosis: general histopathological aspects, morphological criteria, and immunohistochemical findings. *Leuk Res* 2001;25:543-551.
187. Sánchez ML, Almeida J, Vidriales B, López-Berges MC, García-Marcos MA, Moro MJ et al. Incidence of phenotypic aberrations in a series of 467 patients with B chronic lymphoproliferative disorders: basis for the design of specific four-color stainings to be used for minimal residual disease investigation. *Leukemia* 2002;16:1460-1469.
188. BOCG, Senado, Serie I, 23 de febrero de 2007, num 659.
189. Lim KH, Tefferi A, Lasho TL, Finke C, Patnaik M, Butterfield JH et al. Systemic mastocytosis in 342 consecutive adults: survival studies and prognostic factors. *Blood* 2009;113:5727-5736.
190. Matito A, Alvarez-Twose I, Morgado JM, Sánchez-Muñoz L, Orfao A, Escribano L. Clinical Impact of Pregnancy in Mastocytosis: A Study of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA) in 45 Cases. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;156:104-111.
191. Alvarez-Twose I, González-de-Olano D, Sánchez-Muñoz L, Matito A, Jara-Acevedo M, Teodosio C et al. Validation of the REMA score for predicting mast

- cell clonality and systemic mastocytosis in patients with systemic mast cell activation symptoms. *Int Arch. Allergy Immunol* 2011;157:275-280.
192. Sánchez-Matas I, Matito A, Gonzalez de Olano D, Alvarez-Twose I, Sánchez-Muñoz, de la Hoz Caballer B et al. Prevalence of hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs in 212 patients with mastocytosis in Spain. *Allergy* 2009;64:574-575.
193. Rossini M, Zanotti R, Bonadonna P, Artuso A, Caruso B, Schena D et al. Bone mineral density, bone turnover markers and fractures in patients with indolent systemic mastocytosis. *Bone* 2011;49:880-885.
194. Barete S, Assous N, de Gennes C, Grandpeix C, Feger F, Palmerini F et al. Systemic mastocytosis and bone involvement in a cohort of 75 patients. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1838-1941.
195. van der Veer E, van der GW, de Monchy JG, Kluin-Nelemans HC, Van Doormaal JJ. High prevalence of fractures and osteoporosis in patients with indolent systemic mastocytosis. *Allergy* 2012;67:431-438.
196. Lim KH, Pardanani A, Butterfield JH, Li CY, Tefferi A. Cytoreductive therapy in 108 adults with systemic mastocytosis: Outcome analysis and response prediction during treatment with interferon-alpha, hydroxyurea, imatinib mesylate or 2-chlorodeoxyadenosine. *Am J Hematol* 2009;84:790-794.
197. Yoshida C, Takeuchi M, Tsuchiyama J, Sadahira Y. Successful treatment of KIT D816V-positive, imatinib-resistant systemic mastocytosis with interferon-alpha. *Intern Med* 2009;48:1973-1978.
198. Bjerrum OW. Interferon-alpha Treatment in Systemic Mastocytosis. *Curr Drug Targets* 2011;12:433-6.
199. Aichberger KJ, Sperr WR, Gleixner KV, Kretschmer A, Valent P. Treatment responses to cladribine and dasatinib in rapidly progressing aggressive mastocytosis. *Eur J Clin Invest* 2008;38:869-873.
200. Böhm A, Sonneck K, Gleixner KV, Schuch K, Pickl WF, Blatt K et al. In vitro and in vivo growth-inhibitory effects of cladribine on neoplastic mast cells exhibiting the imatinib-resistant KIT mutation D816V. *Exp Hematol* 2010;38:744-755.

201. Jung AG, Horny HP, Sotlar K, Overbeck T, Schön MP, Lippert U. Imatinib mesylate for aggressive systemic mastocytosis with long bone osteolysis. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:224-226.
202. Mital A, Piskorz A, Lewandowski K, Wasag B, Limon J, Hellmann A. A case of mast cell leukaemia with exon 9 KIT mutation and good response to imatinib. *Eur J Haematol* 2011;86:531-535.
203. Alvarez-Twose I, González P, Morgado JM, Jara-Acevedo M, Sánchez-Muñoz L, Matito A et al. Complete Response After Imatinib Mesylate Therapy in a Patient With Well-Differentiated Systemic Mastocytosis. *J Clin Oncol* 2012;30:e126-129.
204. Ustun C, Corless CL, Savage N, Fiskus W, Manaloor E, Heinrich MC et al. Chemotherapy and dasatinib induce long-term hematologic and molecular remission in systemic mastocytosis with acute myeloid leukemia with KIT D816V. *Leuk Res* 2009;33:73-7421.

IX- TABLAS

Tabla I. Rasgos clinicopatológicos de las mastocitosis asociados con sus mediadores mastocitarios conocidos (revisado en las referencias 109, 176 y 183)

Síntomas y signos	Mediadores
Sistémicos	
Fibrosis	Heparina, IL-1, IL-13, TGF- β
Eosinofilia	IL-5
Anticoagulación	Heparina
Hiperplasia mastocitaria	IL-3, IL-6, SCF
Caquexia	TNF- α , IL-6
Fiebre	IL-1, IL-6
Piel	
Prurito	Histamina
Urticaria/ angioedema	Histamina, LTC4, PAF
Tracto Gastrointestinal	
Hipersecreción gástrica	Histamina
Dolor abdominal	Histamina, LTC4, LTD4, PAF
Diarrea	Histamina
Pulmón	
Broncoconstricción	Histamina, LTC4, LTD4, PAF, PGD2, endotelina
Secreción de moco	Histamina, proteasas, PGD2, LTC4
Edema pulmonar	Histamina, LTC4, PAF
Cardiovascular	
Inestabilidad vascular	Histamina, LTC4, LTE4, PAF, PGD2, endotelina
Incremento permeabilidad vascular	Histamina, LTC4, LTD4, PAF, PGD2
Taquicardia	Histamina
Hipertensión	Quimasa, CPA
Flushing	Histamina, PGD2
Esqueleto	
Remodelado óseo	Triptasa, quimotripsina, IL-6
Osteoporosis	Heparina, triptasa, IL-6, TGF- β

CPA: Carboxipeptidasa, IL: Interleucina, LT: Leucotrieno, PG: Prostaglandina, PAF: Factor activador de plaquetas, TGF: Factor de crecimiento transformador, SCF: Factor estimulante de colonias, TNF: Factor de necrosis tumoral

Tabla II. Técnicas hematológicas de laboratorio necesarias para el diagnóstico y clasificación de las mastocitosis y su utilidad clínica¹¹⁷

Método	Características de la técnica	Información suministrada	Utilidad diagnóstica
Citología			
	Extensiones de MO que contengan suficiente grumo medular; Tinciones: Azul de toluidina, May-Grünwald-Giemsa, otras (si se sospecha otra patología)	Número de MC; Morfología de MC; Agregados de MC; Morfología	Criterio mayor: (Agregados de MC); Criterio menor (MC anormales); Enfermedades asociadas
Histología e inmunohistoquímica			
	Cilindro de MO >2 cm de longitud; Tinciones: hematoxilina-eosina, giemsa, triptasa, CD117, CD25	Celularidad; Morfología de MC; Agregados de MC; Fibrosis de MO; Esclerosis ósea	Morfología; Criterio mayor (Agregados de MC); Criterio menor: (MC anormales); Enfermedades asociadas
Citometría de flujo e inmunofenotipo			
	Muestras de MO que contengan suficiente grumo medular; Selección y combinación adecuada de los Ac monoclonales y fluorocromos; Uso de ventanas de adquisición específicas; Adquisición del suficiente número de MC	Número de MC; Expresión en MC de CD25 y otros marcadores aberrantes; Características inmunofenotípicas de otras líneas celulares	Criterio menor: Expresión de CD25 y/o CD2; Patrón inmunofenotípico de MC; Maduro reposo vs. activado vs. inmaduro
Biología molecular			
	Muestras de ADN o ARN adecuadas para técnicas de PCR; Estudio de la mutación de KIT en MC y otras células hematopoyéticas purificadas; Purificación celular mediante FACS; Purificar al menos MC, neutrófilos, monocitos y linfocitos; Estudio de clonalidad mediante HUMARA en las mujeres sin mutación de KIT	Presencia vs. ausencia de la mutación de KIT; Mutación de KIT restringida a MC vs. multilínea; En MS asociadas a otra hemopatía: mutación de KIT en ambos componentes patológicos	Criterio menor: Mutación D816V de KIT; Impacto pronóstico dado por el patrón de mutación de KIT y otras líneas celulares; Demostración de clonalidad por HUMARA en mujeres con la mutación de KIT negativa en MC

ADN: ácido desoxirribonucleico, ARN: ácido ribonucleico, HUMARA: human androgen receptor, MC: mastocito, MO: médula ósea, MS: mastocitosis sistémicas, PCR: reacción en cadena de la polimerasa

Tabla III. Factores que pueden dar lugar a la liberación de mediadores por el mastocito (revisado en las referencias 109 y 176)

Agentes físicos

Fibrosis
Eosinofilia
Anticoagulación
Hiperplasia mastocitaria
Caquexia
Fiebre

Factores emocionales

Estrés
Ansiedad

Fármacos y otras sustancias

Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)
Opiáceos
Alcohol
Relajantes musculares empleados en la anestesia general
Inductores empleados en la anestesia general
Anestésicos locales
Contrastes yodados
Interferón alfa
Cladribina (2-CDA)
Coloides

Venenos

Himenópteros
Ofídeos

a) En pacientes tolerantes, tanto la aspirina (AAS) como otros AINES pueden ser eficaces para el tratamiento de ciertos síntomas. Si un paciente no ha recibido previamente estos fármacos el tratamiento debe ser administrado bajo control médico estricto.

Tabla IV. Fármacos empleados para controlar los síntomas secundarios a la liberación de mediadores mastocitarios en adultos^{176;183}

Síntomas cutáneos	
	Antihistamínicos H1 y H2
	Cromoglicato disódico
Síntomas gastrointestinales	
	Dispepsia/Reflujo gastroesofágico: Antihistamínicos H2 antihistamines, IBP
	Dolor abdominal: Cromoglicato disódico ± AINEs ± montelukast
	Diarrea: Cromoglicato disódico ± AINEs ± antagonistas de leucotrienos ± anticolinérgicos ± corticosteroides
Episodios recurrentes de flushing, dolor abdominal cólico y/o diarrea	
	Cromoglicato disódico ± Antihistamínicos H1 y/o H2 ± AINEs ± montelukast ±corticosteroides
Anafilaxia	
	Episodio agudo: Adrenalina ± Antihistamínicos H1 ± Corticosteroides
	Profilaxis de anafilaxia idiopática recidivante: Cromoglicato disódico ± Antihistamínicos H1 y/o H2 ± BDZ o ISRS* ± Omalizumab
Patología ósea	
	Osteoporosis: Suplementos de calcio ± vitamina D ± bisfosfonatos ± interferón α-2b†
	Esclerosis ósea: Cromoglicato disódico ± corticosteroides ± interferón α-2b

AINEs: antiinflamatorios no esteroideos, BDZ: benzodiacepinas, IBP: inhibidor de la bomba de protones, ISRS: inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina.

Tabla V. Frecuencia de síntomas secundarios a la liberación de mediadores mastocitarios al inicio del estudio en mastocitosis sistémicas indolentes con y sin lesión cutánea

Síntomas	MSIp+ (n= 67)	MSIp- (n=7)	p
<i>Prurito</i>	46 (69%)	1 (14%)	0,008
<i>Urticaria</i>	2 (3%)	0 (0%)	>0,05
<i>Angioedema</i>	0 (0%)	0 (0%)	NA
<i>Flushing</i>	33 (49%)	2 (29%)	>0,05
<i>Pépticos</i>	11 (16%)	1 (14%)	>0,05
<i>Dolor abdominal</i>	25 (37%)	2 (29%)	>0,05
<i>Diarrea</i>	20 (30%)	2 (29%)	>0,05
<i>Anafilaxia</i>	10 (15%)	7 (100%)	<0,001

Los resultados se muestran como número total y porcentaje entre paréntesis

MSIp+: mastocitosis sistémica indolente con lesión cutánea, MSlp-: mastocitosis sistémica indolente sin lesión cutánea, NA: no aplicable

Tabla VI. Frecuencia de síntomas secundarios a la liberación de mediadores mastocitarios en mastocitosis sistémicas indolentes al inicio del estudio

Síntomas	Mutación de KIT restringida al MC (n=55)	Mutación de KIT multilíneal (n=19)
<i>Prurito</i>	31 (56%)	16 (84%)
<i>Urticaria</i>	1 (2%)	1 (5%)
<i>Angioedema</i>	0 (0%)	0 (0%)
<i>Flushing</i>	26 (47%)	9 (47%)
<i>Pépticos</i>	7 (13%)	5 (26%)
<i>Dolor abdominal</i>	19 (35%)	8 (42%)
<i>Diarrea</i>	15 (27%)	7 (37%)
<i>Anafilaxia</i>	14 (25%)	3 (16%)

Los resultados se muestran como número total y porcentaje entre paréntesis

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los grupos

Tabla VII. Frecuencia de factores desencadenantes para cada síntoma al inicio del estudio

Síntoma	Factor desencadenante	Número de casos (%)
<i>Prurito</i>		47 (63%)
	Factores físicos (roce, calor)	24 (51%)
	Idiopático	18 (38%)
	Estrés	10 (21%)
	Otros (fármacos, alimentos)	2 (4%)
<i>Urticaria</i>		2 (3%)
	Anisakis	1 (50%)
	Fármacos	1 (50%)
<i>Flushing</i>		35 (47%)
	Idiopático	18 (51%)
	Factores físicos (calor)	12 (34%)
	Estrés	11 (31%)
	Otros (fármacos, alcohol)	3 (9%)
<i>Dispepsia</i>		12 (16%)
	Helicobacter pylori	5 (42%)
	Idiopático	4 (33%)
	Hernia de hiato	3 (25%)
<i>Dolor abdominal</i>		27 (36%)
	Idiopático	19 (70%)
	Estrés	5 (19%)
	Alcohol	3 (11%)
<i>Diarrea</i>		22 (30%)
	Idiopático	16 (73%)
	Estrés	7 (32%)
	Alcohol	1 (5%)
<i>Anafilaxia</i>		17 (23%)
	Fármacos	7 (41%)
	Idiopático	5 (30%)
	Veneno de himenóptero	4 (24%)
	Manipulación gastrointestinal	1 (6%)

Los resultados se muestran como número total y porcentaje entre paréntesis
 En algunos casos, los síntomas fueron desencadenados por varios factores

Tabla VIII. Fármacos antimedidores empleados por los 74 pacientes con mastocitosis sistémica indolente al inicio del estudio y a los 48 meses de seguimiento

Fármacos	Al inicio	A los 48 meses
<i>Cromoglicato disódico</i>	12 (16%)	61 (82%)
<i>Antihistamínicos H1</i>	19 (26%)	32 (43%)
<i>Antihistamínicos H2</i>	3 (4%)	17 (23%)
<i>AINEs</i>	0 (0%)	3 (4%)
<i>Montelukast</i>	1 (1%)	7 (9%)
<i>Corticosteroides</i>	3 (4%)	6 (8%)
<i>Adrenalina</i>	6 (8%)	3 (4%)
<i>Ansiolíticos/Antidepresivos</i>	2 (3%)	11 (15%)
<i>Antimediador intensivo</i>	0 (0%)	26 (35%)

Los resultados se muestran como número total y porcentaje entre paréntesis

AINEs: Antiinflamatorios no esteroideos

Tabla IX. Clasificación de los pacientes del estudio según los criterios diagnósticos de mastocitosis sistémica de la Organización Mundial de la Salud^{106;118}

Criterios	Número de casos (%)
Mayor	
Agregados ≥ 15 MC en MO	59 (80%)
Menores	
25% de MC anormales en MO	66 (76%)
MC CD25+	74 (100%)
Triptasa sérica basal >20 ng/mL	47 (63%)
Mutación D816V del gen KIT	74 (100%)

Los resultados se muestran como número total y porcentaje entre paréntesis

Una mastocitosis se considera sistémica si se cumple 1 criterio mayor y 1 menor, ó 3 criterios menores

MC: mastocitos; MO: médula ósea

Tabla X. Características demográficas, clínicas y analíticas de los 74 pacientes con mastocitosis sistémica indolente agrupados según el patrón de evolución de la triptasa sérica basal tras 48 meses de seguimiento

Variable	PD (n=16)	PF (n=10)	PA (n=48)	p
Hombre/Mujer*	31%/69%	50%/50%	48%/52%	NS
Edad al inicio de la enfermedad (años)	29 (7 – 52)	25 (0 – 43)	29 (12 – 72)	NS
Edad en la primera determinación de TSB (años)	43 (16 – 62)	32 (17 – 48)	41 (15 – 72)	NS
Tiempo desde el inicio de la enfermedad hasta la primera determinación de TSB (meses)	104 (27 – 463)	99 (45 – 210)	62 (0 – 88)	NS
Edad en el primer estudio de MO (años)	43 (16 – 62)	33 (17 – 48)	42 (22 – 74)	NS
Tiempo desde la primera determinación de TSB hasta el primer estudio de MO (meses)	2 (0 – 71)	2 (0 – 12)	0 (0 – 91)	NS
Tiempo de seguimiento (meses)	118 (61 – 170)	90 (56 – 146)	117 (51 – 193)	NS
Primera determinación de TSB (ng/mL)	39,7 (8,7 – 199)	22 (12,5 – 114)	26,6 (2,5 – 148)	NS
Última determinación de TSB (ng/mL)	19,2 (7 – 183)	25,6 (10,7 – 70,8)	44 (7 – 1300)	NS
Pendiente de triptasa tras 48 meses de seguimiento	-0,23 (-2 – 0,04)	0,01 (-0,44 – 0,14)	0,25 (-0,09 – 12,4)	<0,001†
Pendiente de triptasa ³0.15 tras 48 meses de	0 (0%)	0 (0%)	31 (65%)	<0,001
Pendiente de triptasa al final del seguimiento	-0,08 (-0,75 – 0,14)	-0,04 (-0,82 – 0,26)	0,15 (-0,04 –	<0,001‡
Pendiente de triptasa ³0.15 al final del seguimiento	0 (0%)	1 (10%)	24 (50%)	<0,001
% MC en el primer estudio de MO§	0,14 (0,008 – 0,7)	0,05 (0,006 – 0,17)	0,1 (0,001 – 1,7)	NS
Mutación multilíneal de KIT	0 (0%)	2 (20%)	17 (35%)	0,02
Progresión a MSS*	0 (0%)	0 (0%)	4 (8%)	NS
Progresión a MSA*	0 (0%)	0 (0%)	2 (4%)	NS

Los resultados se expresan como medianas con los rangos entre paréntesis, y *como porcentaje de casos

MC: mastocito, MO: médula ósea, MSA: mastocitosis sistémica agresiva, MSS: mastocitosis sistémica smouldering, NS: sin significación estadística (p>0,05), PA: patrón ascendente, PD: patrón descendente, PF: patrón fluctuante, TSB: triptasa sérica basal; †PD vs. PF p=0,008, PD vs. PA p<0,001, PF vs. PA ; <0,001 ; ‡PD vs PA p<0,001, PF vs. PA p<0,001; §Analizado por citometría de flujo

Tabla XI. Síntomas y tratamiento antimedador de los 74 pacientes con mastocitosis sistémica indolente agrupados según el patrón de evolución de la triptasa sérica basal tras 48 meses de seguimiento

Variable	PD (n=16)	PF (n=10)	PA (n=48)
<i>Prurito</i>	6 (38%)	4 (40%)	30 (63%)
<i>Urticaria</i>	0 (0%)	0 (0%)	1 (2%)
<i>Angioedema</i>	1 (6%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Flushing</i>	6 (38%)	3 (30%)	22 (46%)
<i>Dispepsia</i>	2 (13%)	3 (30%)	7 (15%)
<i>Dolor abdominal</i>	2 (13%)	4 (40%)	15 (31%)
<i>Diarrea</i>	2 (13%)	4 (40%)	20 (42%)
<i>Anafilaxia</i>	1 (6%)	1 (10%)	5 (10%)
<i>Cromoglicato disódico oral pautado</i>	13 (81%)	8 (80%)	40 (83%)
<i>Intensivo pautado*</i>	3 (19%)	4 (40%)	17 (35%)
<i>A demanda†</i>	3 (19%)	4 (40%)	7 (15%)
<i>Corticoesteroides</i>	1 (6%)	1 (10%)	4(8%)
<i>Adrenalina</i>	1 (6%)	1 (10%)	1 (2%)

Los resultados se muestran como número total y porcentaje entre paréntesis

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los grupos

PA: patrón ascendente, PD: patrón descendente, PF: patrón fluctuante, TSB: triptasa sérica basal

*Tratamiento pautado con cromoglicato disódico oral y antihistamínicos H1 sedantes o no, y/o antihistamínicos H2, y/o antagonistas de leucotrienos, y/o ansiolíticos y/o antidepresivos

†Antihistamínicos H1 sedantes o no, y/o corticoides sistémicos y/o adrenalina

Tabla XII. Características demográficas de los pacientes con mastocitosis sistémica indolente agrupados según la pendiente de triptasa sérica basal a los 48 meses y al final del seguimiento

Variable	A los 48 meses de seguimiento		Al final del seguimiento	
	Pendiente de triptasa < 0.15 (n=43)	Pendiente de triptasa ≥ 0.15 (n=31)	Pendiente de triptasa < 0.15 (n=49)	Pendiente de triptasa ≥ 0.15 (n=25)
<i>Hombre/Mujer*</i>	37%/63%	55%/45%	45%/55%	44%/56%
<i>Edad al inicio de la enfermedad (años)</i>	28 (0 – 61)	29 (12 – 72)	27 (0 – 72)	32 (16 – 66)
<i>Edad en el primer estudio de MO (años)</i>	41 (16 – 63)	42 (22 – 74)	42 (16 – 73)	41 (20 – 74)
<i>Edad en la primera determinación de triptasa (años)</i>	41 (16 – 63)	42 (15 – 72)	42 (14 – 72)	41 (20 – 71)
<i>Tiempo desde el inicio de la enfermedad hasta el primer estudio de MO (meses)</i>	84 (0 – 463)	71 (0 – 254)	96 (2 – 463)	64 (0 – 281)
<i>Tiempo desde el inicio de la enfermedad hasta la primera determinación de triptasa (meses)</i>	84 (0 – 463)	64 (0 – 254)	84 (1 – 463)	60 (0 – 281)
<i>Tiempo desde la primera determinación de triptasa hasta el primer estudio de MO (meses)</i>	1 (0 – 71)	0 (0 – 91)	1 (0 – 91)	0 (0 – 31)

Los resultados se expresan como medianas con los rangos entre paréntesis, y * como porcentaje de casos

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los grupos

MO: médula ósea

Tabla XIII. Síntomas y tratamiento antimedador de los 74 pacientes con mastocitosis sistémica indolente agrupados según la pendiente de triptasa sérica basal <0,15 vs. ≥0,15 a los 48 meses de seguimiento

Variable	Pendiente de triptasa <0,15 (n=43)	Pendiente de triptasa ≥0,15 (n=31)
<i>Prurito</i>	23 (53%)	17 (55%)
<i>Urticaria</i>	1 (2%)	0 (0%)
<i>Angioedema</i>	1 (2%)	0 (0%)
<i>Flushing</i>	16 (37%)	15 (48%)
<i>Dispepsia</i>	8 (19%)	4 (13%)
<i>Dolor abdominal</i>	13 (30%)	8 (26%)
<i>Diarrea</i>	14 (33%)	12 (39%)
<i>Anafilaxia</i>	1 (2%)	2 (6%)
<i>Cromoglicato disódico oral pautado</i>	34 (79%)	27 (87%)
<i>Intensivo pautado*</i>	12 (28%)	12 (39%)
<i>A demanda†</i>	9 (21%)	5 (16%)
<i>Corticoesteroides</i>	4 (9%)	2 (6%)
<i>Adrenalina</i>	2 (5%)	1 (3%)

Los resultados se muestran como número total y porcentaje entre paréntesis

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los grupos

*Tratamiento pautado con cromoglicato disódico oral y antihistamínicos H1 sedantes o no, y/o antihistamínicos H2, y/o antagonistas de leucotrienos, y/o ansiolíticos y/o antidepresivos

†Antihistamínicos H1 sedantes o no, y/o corticoides sistémicos y/o adrenalina

Tabla XIV. Características clínicas y analíticas de los 74 pacientes con mastocitosis sistémica indolente agrupados según el valor de la pendiente de triptasa sérica basal a los 48 meses de seguimiento

Variable	Pendiente de triptasa <0,15 (n=43)	Pendiente de triptasa ≥0,15 (n=31)	p
<i>Lesión cutánea*</i>	39 (91%)	28 (90%)	NS
<i>Pendiente de triptasa al final del seguimiento</i>	0 (-0,82 – 0,61)	0,18 (-0,04 – 21,4)	<0,001
<i>Mutación de KIT multilíneal*</i>	6 (14%)	13 (42%)	0,01
<i>% MC de MO†</i>	0,07 (0,004 – 0,7)	0,1 (0,001 – 1,7)	NS
<i>Osteoporosis inicial*</i>	4 (9%)	3 (10%)	NS
<i>Osteoporosis al final del seguimiento*</i>	6 (14%)	5 (16%)	NS
<i>Esclerosis ósea parcheada al final del seguimiento*</i>	2 (5%)	2 (6%)	NS
<i>Esclerosis ósea difusa al final del seguimiento*</i>	1 (2%)	4 (13%)	NS
<i>Organomegalia inicial*</i>	0 (0%)	1 (3%)‡	NS
<i>Organomegalia al final del seguimiento*</i>	3 (7%)§	6 (19%)	NS
<i>Progresión a MSS*</i>	0 (0%)	4 (13%)	0,03
<i>Progresión a MSA*</i>	0 (0%)	2 (6%)	NS

Los resultados se expresan como medianas con los rangos entre paréntesis, y *como porcentaje de casos
MCMO: mastocitos en médula ósea, MSA: mastocitosis sistémica agresiva, MSS: mastocitosis sistémica smouldering, NS: sin significación estadística (p>0,05)

†Analizado por citometría de flujo

‡Esplenomegalia

§Hepatomegalia en 1 caso, hepatomegalia con esplenomegalia en los otros 2 pacientes

||Esplenomegalia en 1 caso, hepatomegalia con esplenomegalia en los otros 5 pacientes

Tabla XV. Análisis univariado y multivariado de factores predictivos de la mutación multilíneal de KIT

Factor predictivo	Análisis univariado		Análisis multivariado	
	Pacientes, No. (%)	RR (IC 95%)	HR (IC 95%)	p
<i>Pendiente de triptasa ≥ 0.15 a los 48 meses de seguimiento</i>	13 (42%)	4,5 (1,5 – 13,6)	3,8 (1,2 – 12,3)	0,02
<i>Hepatomegalia con esplenomegalia</i>	5 (71%)	9,5 (1,7 – 54)	7,4 (1,2 – 45,8)	0,03

Los resultados se expresan como medianas con los rangos entre paréntesis, y * como porcentaje de casos

MC: mastocito, MO: médula ósea, MSA: mastocitosis sistémica agresiva, MSS: mastocitosis sistémica smouldering, NS: sin significación estadística

($p > 0,05$), PA: patrón ascendente, PD: patrón descendente, PF: patrón fluctuante, TSB: triptasa sérica basal; †PD vs. PF $p = 0,008$, PD vs. PA $p < 0,001$, PF vs. PA ; $< 0,001$; ‡PD vs PA $p < 0,001$, PF vs. PA $p < 0,001$; §Análizado por citometría de flujo

Tabla XVI. Modelo de puntuación para predecir la clonalidad de mastocitos de médula ósea y mastocitosis sistémica en casos con síntomas secundarios a activación mastocitaria^{119;191}

Variable	SAMS	HR	p	Puntuación
Sexo				
Hombre	Clonal	4,8	0,013	+1
Mujer	No clonal	3,8	0,022	-1
Síntomas				
Ausencia de urticaria, prurito y/o angioedema	Clonal	5,4	0,003	+1
Urticaria, prurito y/o angioedema	No clonal	7,7	0,001	-2
Mareo o síncope	Clonal	14,6	0,009	+3
Triptasa sérica basal				
<15 ng/mL	No clonal	4,8	0,015	-1
>25 ng/mL	Clonal	10,4	0,006	+2

Puntuación <2: baja probabilidad de c-SAMS, >2: alta probabilidad de c-SAMS

Sensibilidad 0,92, Especificidad 0,81, VPP 0,89, VPN 0,87

c-SAMS: Síndrome de activación mastocitaria sistémico clonal, HR: Hazard ratio, SAMS: Síndrome de activación mastocitaria sistémico, VPN: Valor predictivo negativo, VPP: Valor predictivo positivo

X- FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática de la estructura del receptor de KIT.³³

Resumen de las cascadas celulares activadas a través de este receptor, y los principales efectos biológicos que se producen (columna derecha). (—) representa el hipotético lugar de unión, (→) indica activación, (⊥) indica efecto inhibitorio, (↑) representa un aumento en la función celular, (↓) representa disminución de la función celular. Referencias: a (Wollberg et al, 2003), b (Tauchi et al, 1994), c (Kozłowski et al, 1998), d (Linnekin et al, 1997), e (Timokhina et al, 1998), f (Price et al, 1997), g (Roskoski, 2005), h (Lennartsson et al, 1999), i (Weiler et al, 1996), j (Thommes et al, 1999), k (Shivakrupa & Linnekin, 2005), l (Lev et al, 1992), m (Blume-Jensen et al, 1998), n (Tanaka et al, 2005), o (Gommerman et al, 2000), p (Trieselmann et al, 2003), q (Lennartsson et al, 2003).

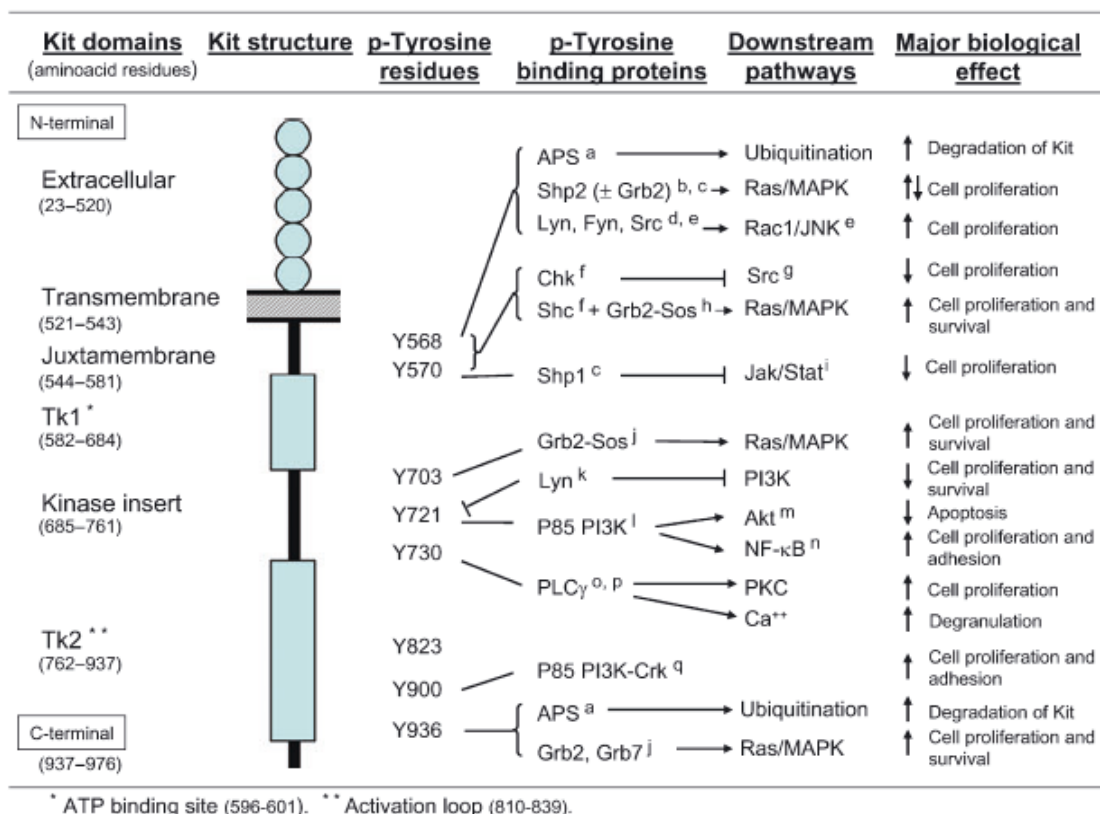


Figura 2. Morfología de los mastocitos normales en médula ósea. A) Tinción de azul de toluidina en la que se observa un mastocito redondo con el citoplasma repleto de gránulos, algunos de los cuáles se sitúan sobre el núcleo. B) Tinción de May-Grünwald-Giemsa, en este ejemplo el mastocito es ovalado.

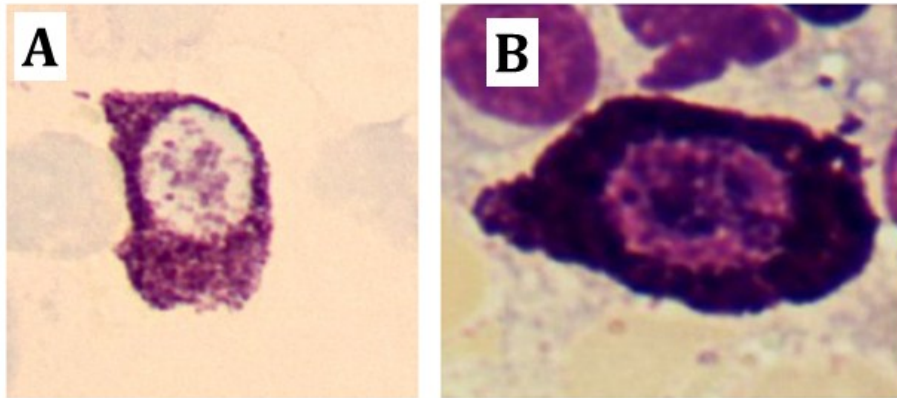


Figura 3. Citología de una mastocitosis sistémica indolente. Mastocitos con morfología anormal (tinción azul de toluidina). Destaca la heterogeneidad morfológica con una mezcla de mastocitos redondos, alargados y ovales, con núcleo excéntrico y distribución anómala de los gránulos, frecuentemente polar.

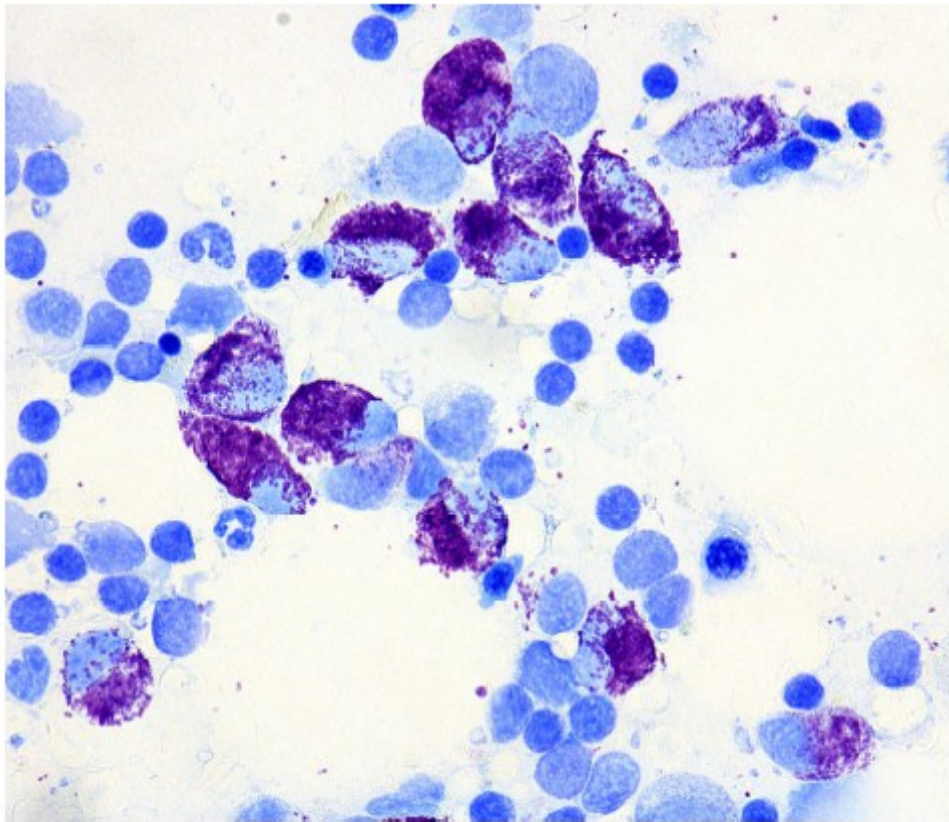


Figura 4. Agregados de mastocitos (>15) en médula ósea. A) Histología de médula ósea, en la que destaca la presencia de agregados perivasculares en una forma no agresiva constituídos por mastocitos redondeados rodeando a un vaso sanguíneo claramente identificable (inmunohistoquímica para triptasa x 200). B) Aspirado de médula ósea en el que puede verse un agregado de gran tamaño constituido por mastocitos predominantemente alargados (tinción azul de toluidina x 200).

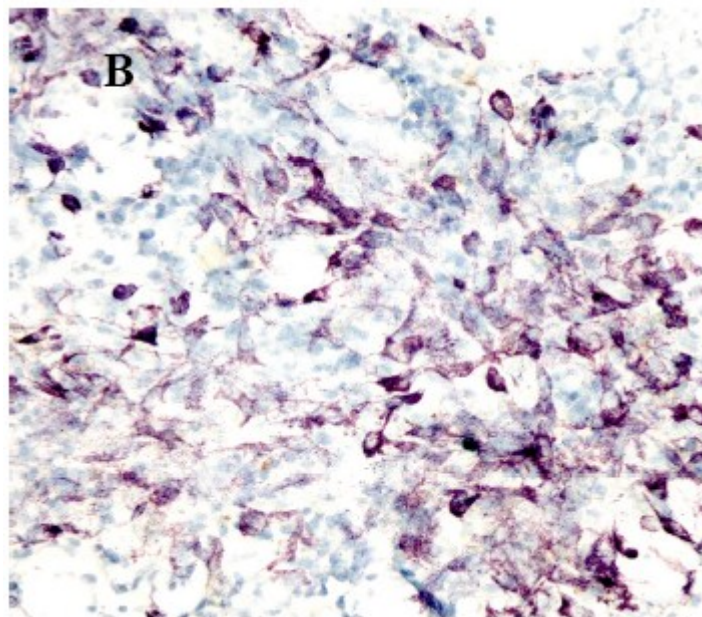
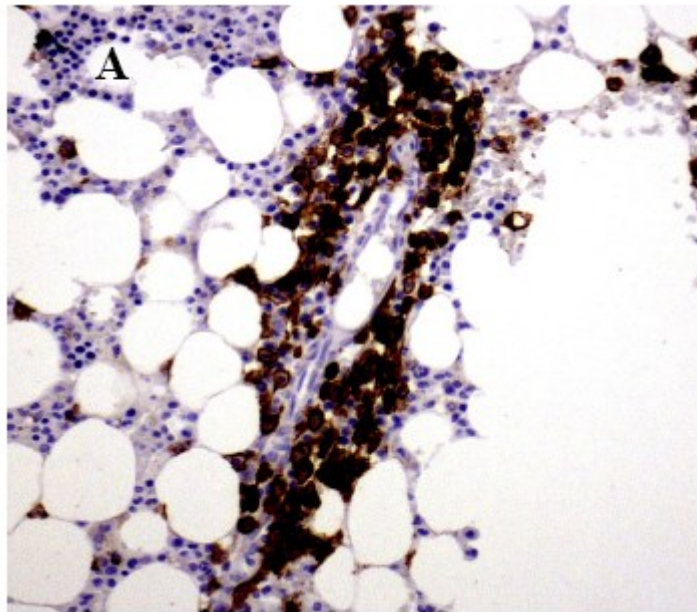


Figura 5. Extensión de médula ósea correspondiente a una mastocitosis no agresiva. Se observan mastocitos predominantemente redondeados (flechas negras) junto con eosinófilos (flechas rojas) y linfocitos (flechas azules). Tinción de May-Gründwald-Giemsa x 500.

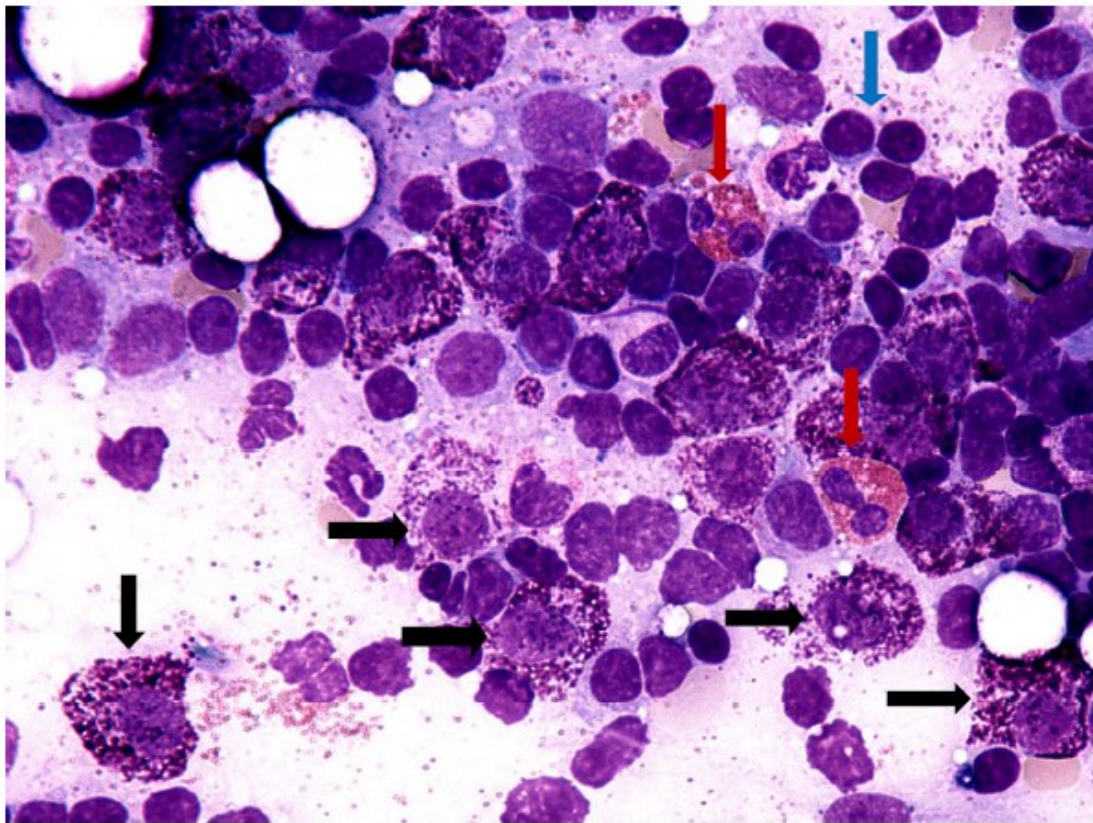


Figura 6. Identificación de mastocitos de médula ósea por citometría de flujo. Arriba a la izquierda, “dot plot” o representación biparamétrica de las características de granularidad (SSC) y expresión de CD117 (A), y de CD45/CD117 -centro (B)- que permite la correcta identificación de los mastocitos y el trazado de una ventana de análisis sobre la cual se realizarán los estudios posteriores – derecha (C)-. Debajo, estudio de la expresión de controles isotípicos en isotiocianato de fluoresceína (FITC) (D) y ficoeritrina (PE) (E) para la determinación de la autofluorescencia de los mastocitos. Abajo, expresión de los antígenos IgE (F), CD25 (G) y CD2 (H) en la ventana de análisis de los mastocitos en una médula ósea procedente de un paciente con una mastocitosis sistémica indolente y en un paciente con una mastocitosis sistémica bien diferenciada: IgE (I), CD25 (J) y CD2 (K).

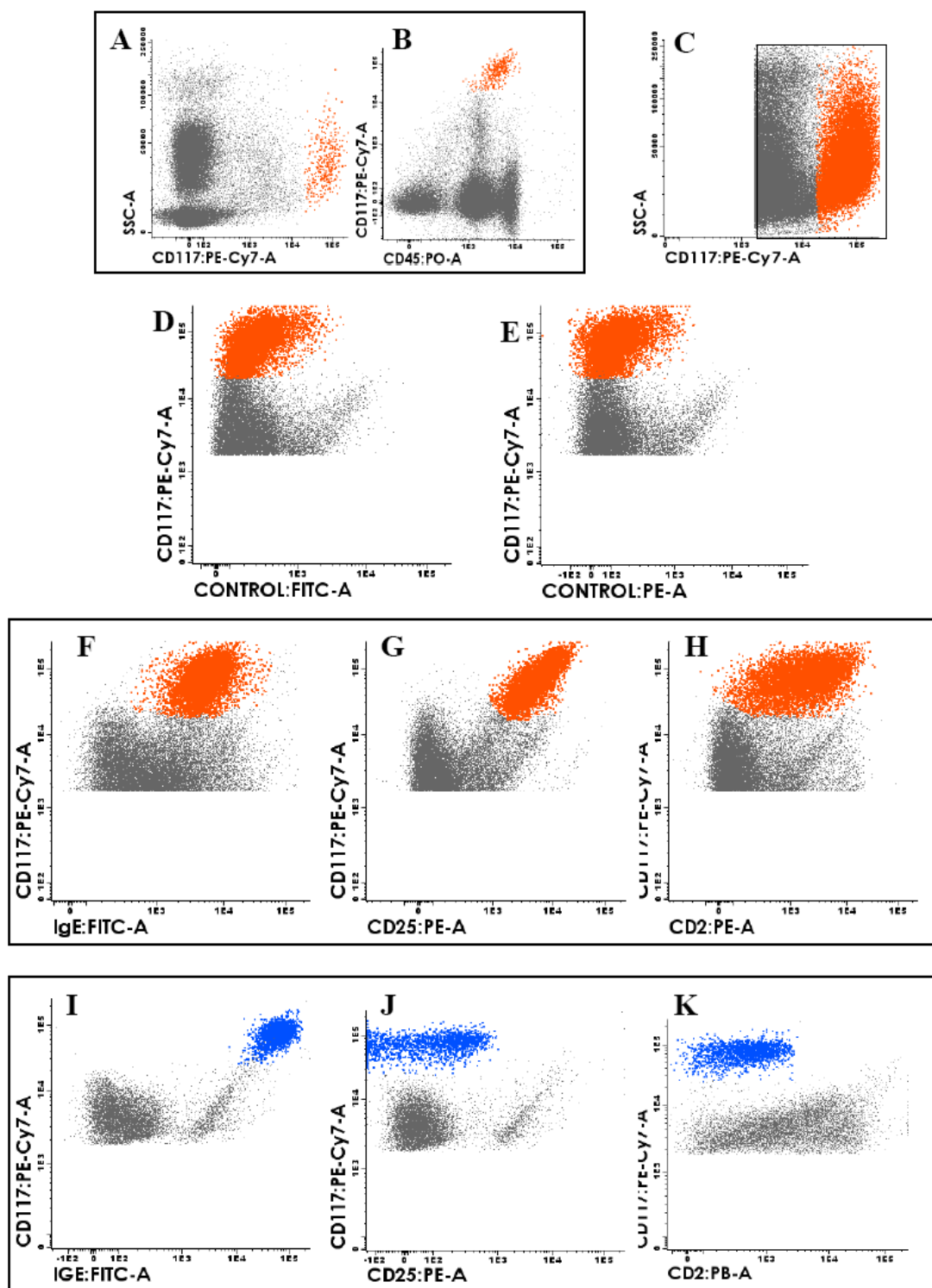


Figura 7. Mutación D816V de *KIT* en mastocitos de médula ósea.¹¹⁵ En la parte superior de la figura se distingue la diferencia del punto de fusión para el *KIT* “wild type” (línea azul) y el *KIT* con la mutación D816V (línea roja). En la parte inferior puede verse el cambio en la secuencia de aminoácidos en el *KIT* mutado.

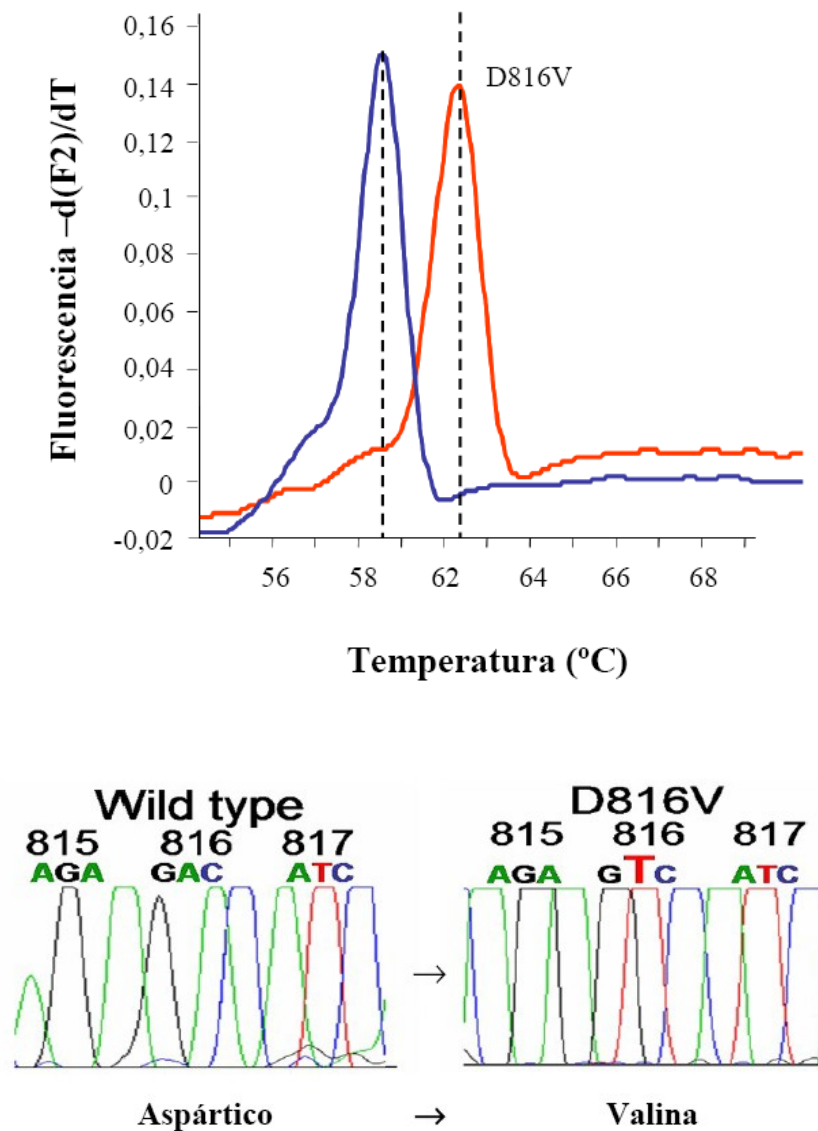


Figura 8. Tipos de lesión cutánea en las mastocitosis. A) Forma maculopapular (conocida como urticaria pigmentosa). B) Mastocitosis cutánea con infiltración extensa de la piel y fusión de lesiones que le confieren aspecto en placas. Destaca la baja pigmentación si se compara con las otras formas incluidas en esta figura. C) Mastocitoma solitario en forma de lesión sobreelevada. D) Forma micronodular correspondiente a una mastocitosis sistémica bien diferenciada.

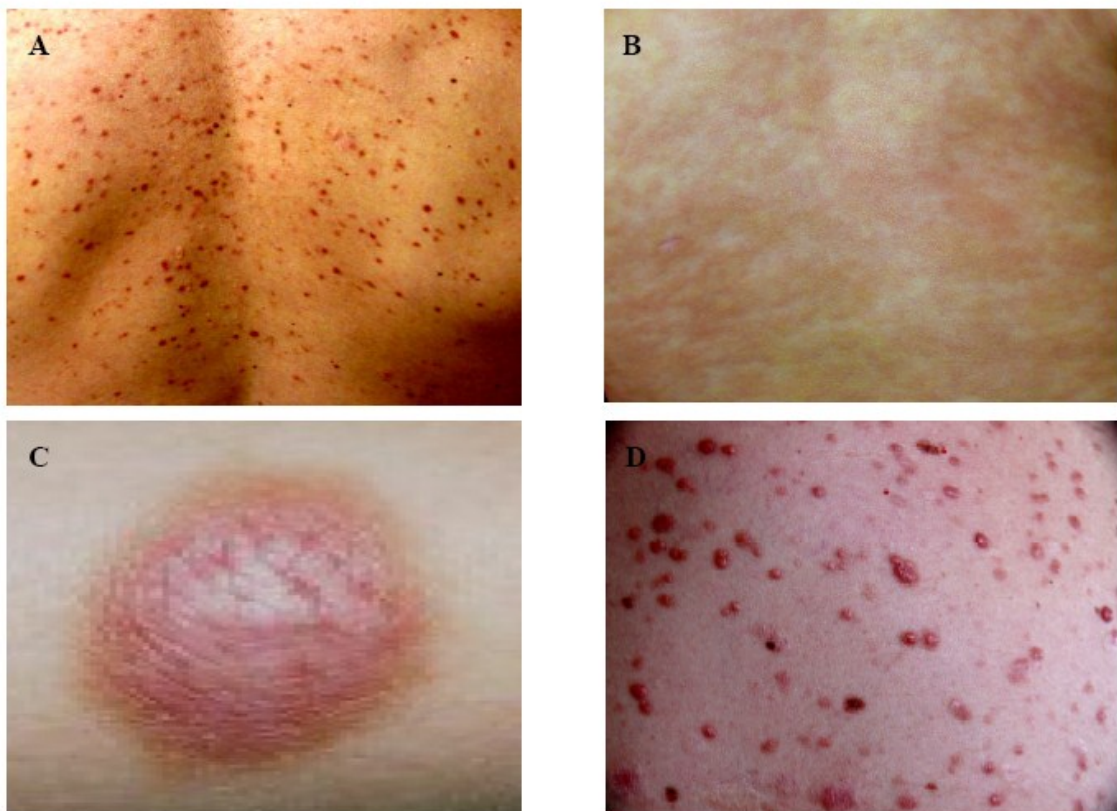


Figura 9. Infiltrados de mastocitos en la piel. A) Forma maculopapular (tinción de triptasa x 100), se observa la presencia de mastocitos alargados y ovals con agregados de tamaño medio. B) Forma bien diferenciada (tinción de c-kit x 100), con presencia de mastocitos redondos o poligonales, infiltración difusa y formación de cordones.

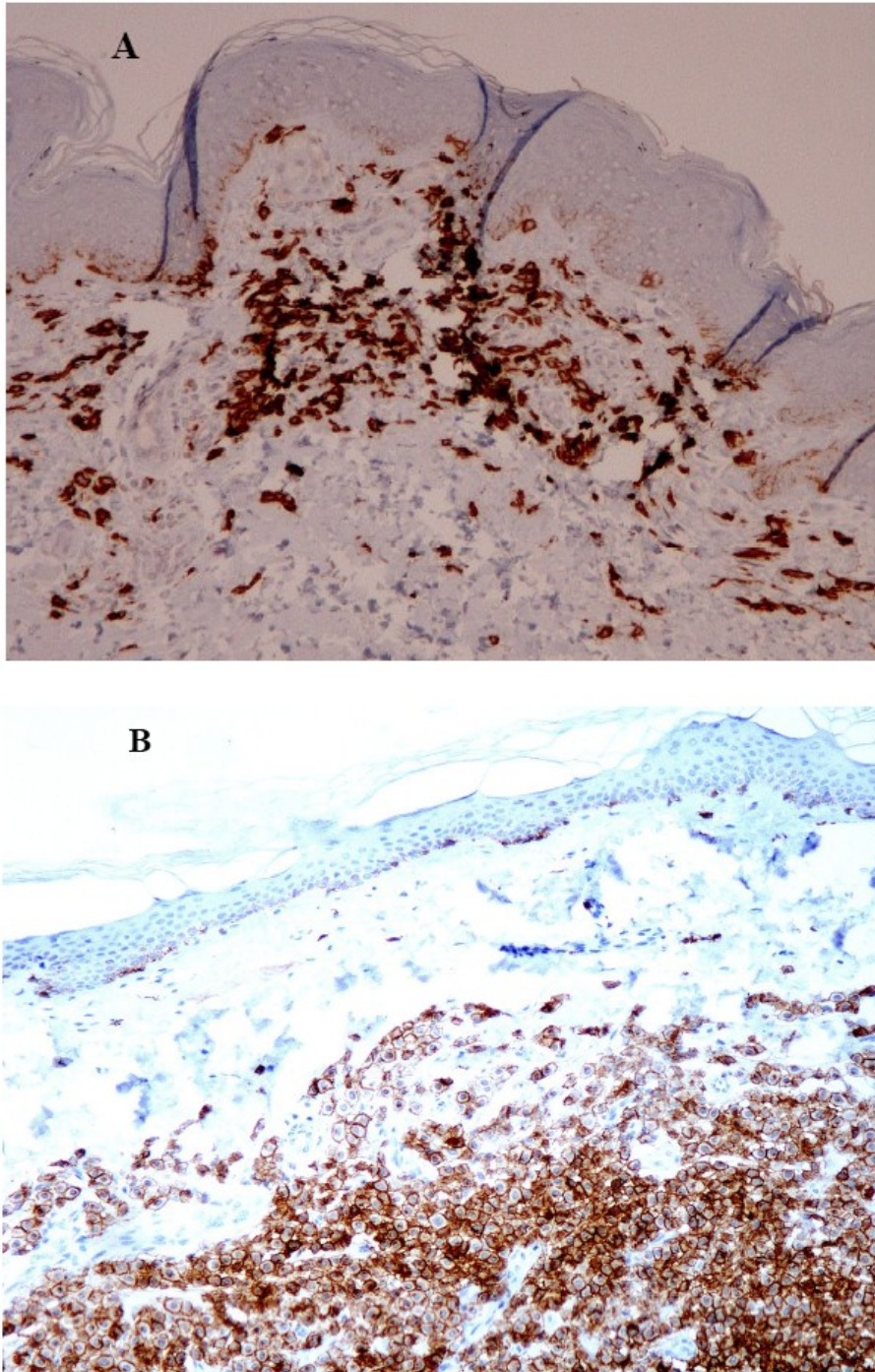


Figura 10. Mastocitosis sistémica bien diferenciada. Aspirado de médula ósea en la que se observan mastocitos de tamaño aumentado, redondos, con núcleo central, el citoplasma repleto de gránulos y tendencia a la agregación (tinción de May-Gründwald-Giemsa x 500).

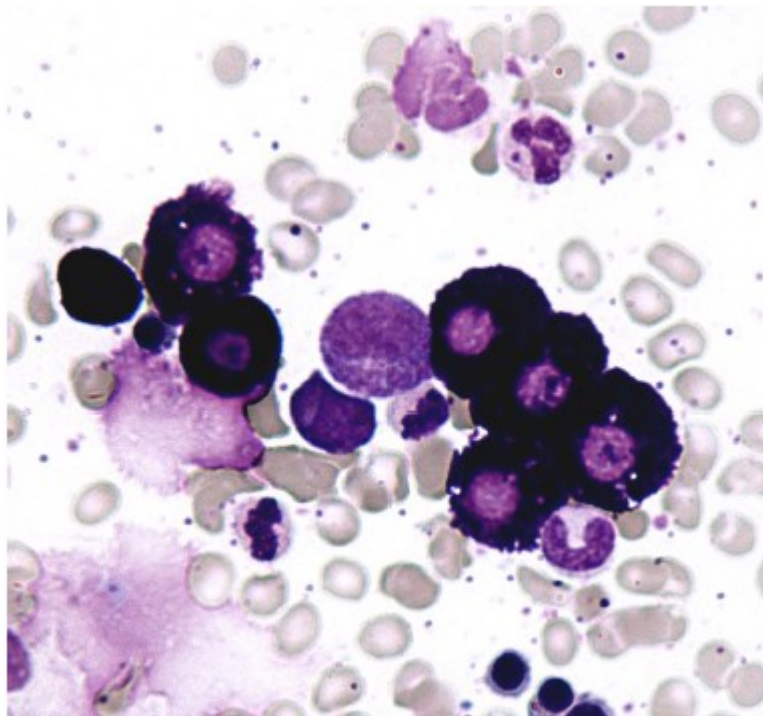


Figura 11. Histología de médula ósea de una mastocitosis sistémica bien diferenciada. Se observa un agregado intersticial de localización intertrabecular, constituido por mastocitos redondos con localización citoplasmática del c-kit (inmunohistoquímica para c-kit x 500)

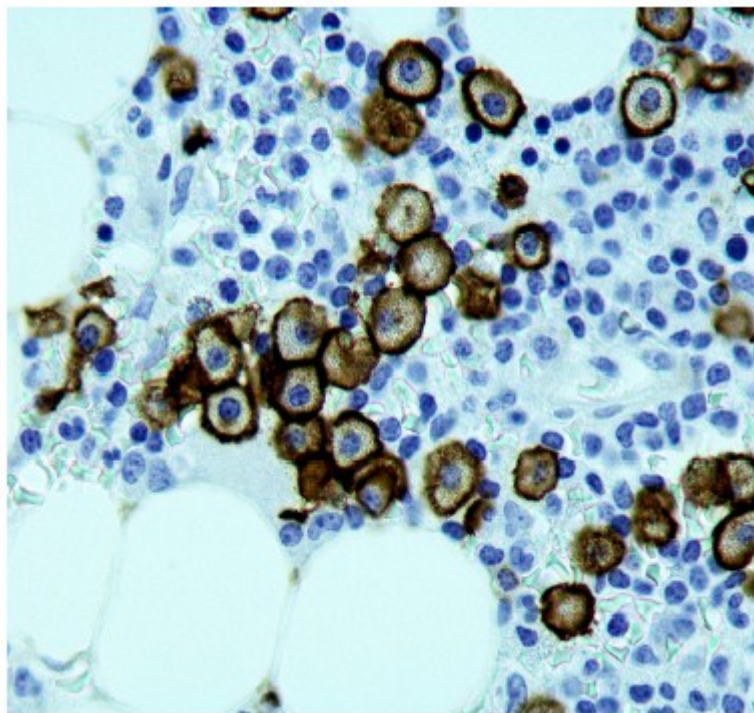


Figura 12. Histología de médula ósea de una mastocitosis sistémica agresiva. Se observa un agregado intersticial sin fibrosis asociada (A), un infiltrado paratrabecular con fibrosis marcada (B) y, junto con ello, una zona de médula de celularidad y morfología normales con algún mastocito aislado (C). Tinción inmunohistoquímica para triptasa x100.

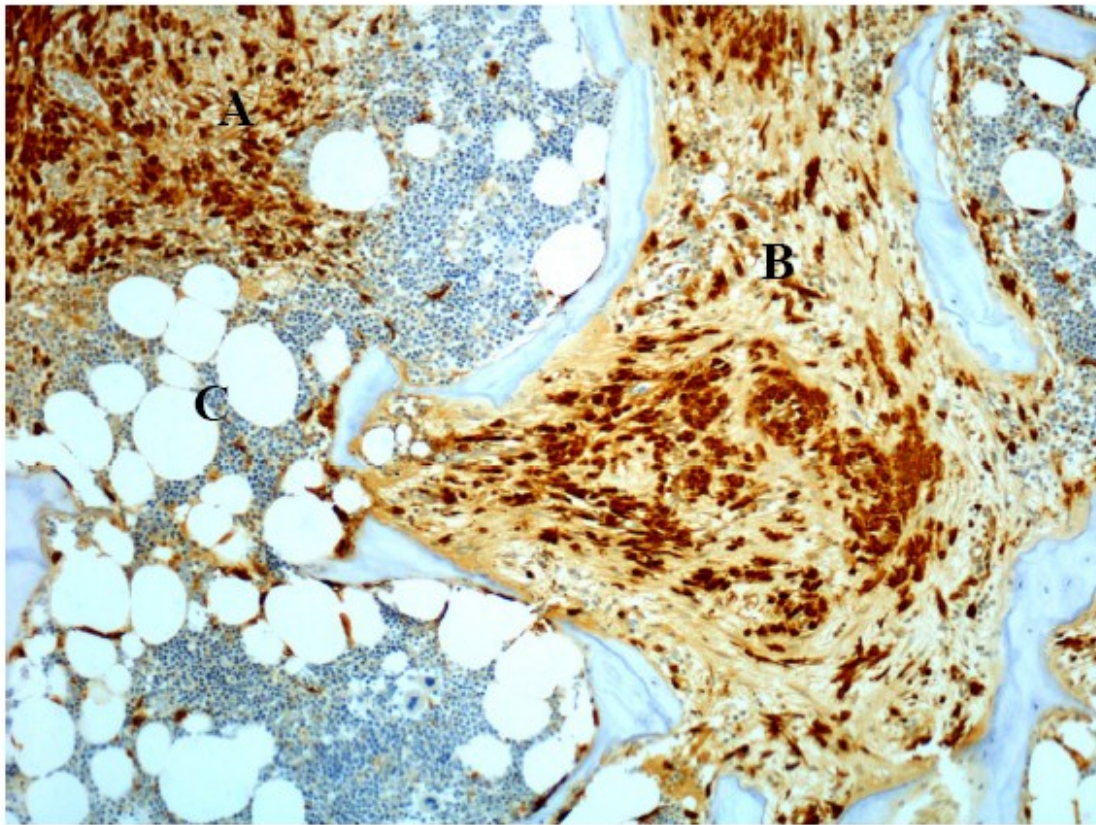


Figura 13. Leucemia de mastocitos. Se observan 4 mastocitos atípicos con morfología displásica, tamaño aumentado, 2 de ellos con núcleo bilobulado (promastocitos) y distribución anómala de la granulación citoplasmática (tinción de May-Gründwald-Giemsa x 600).

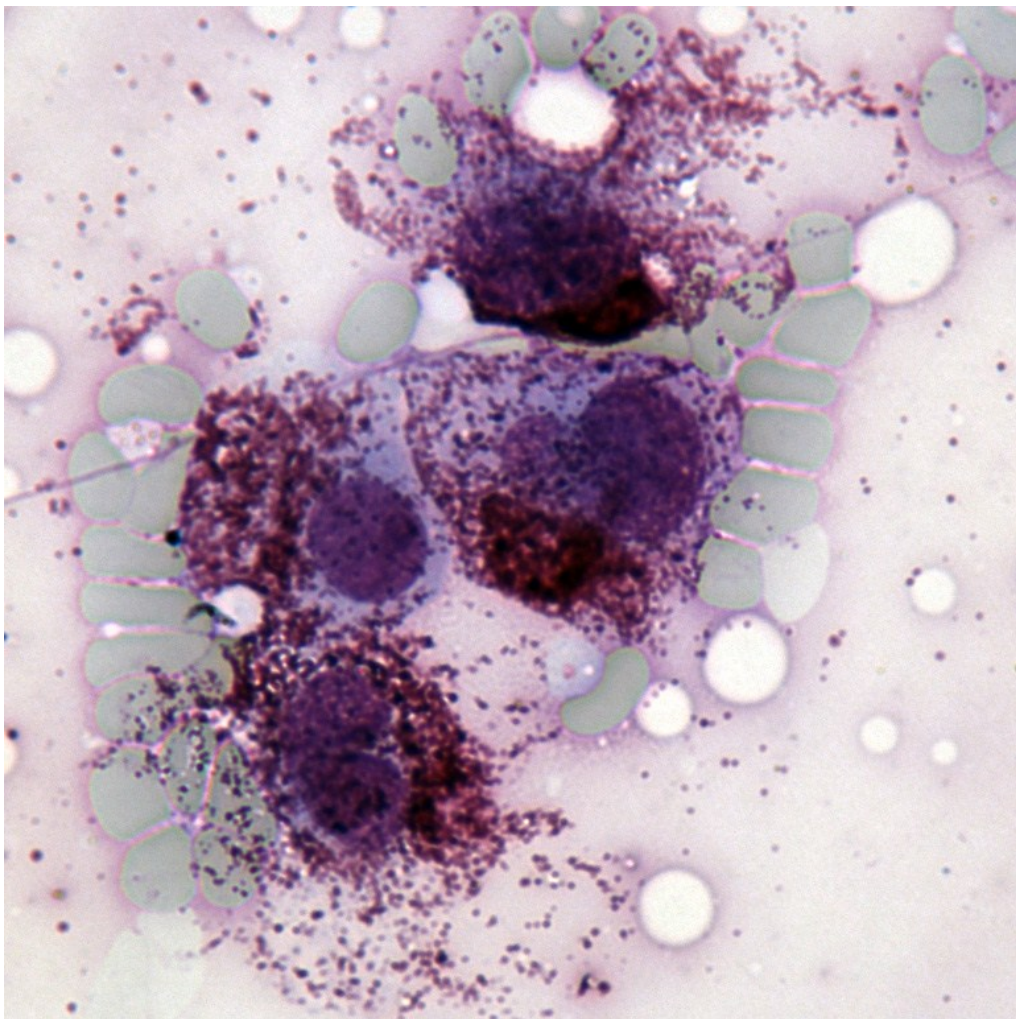
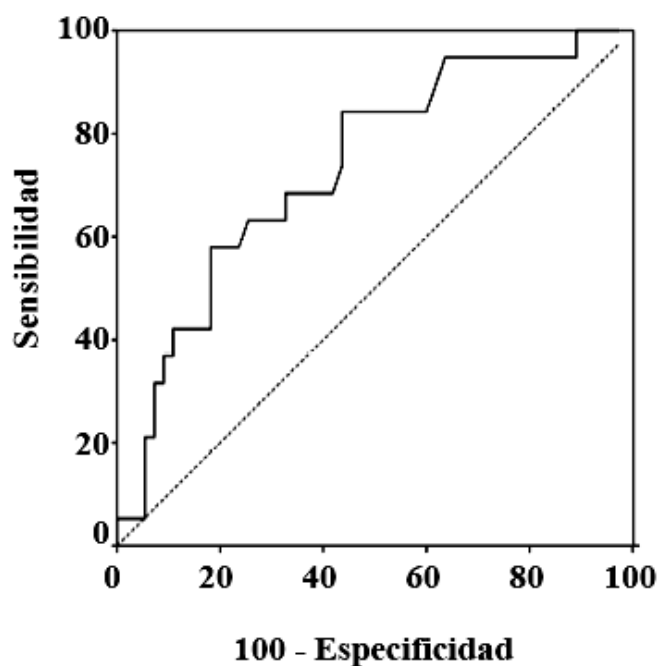


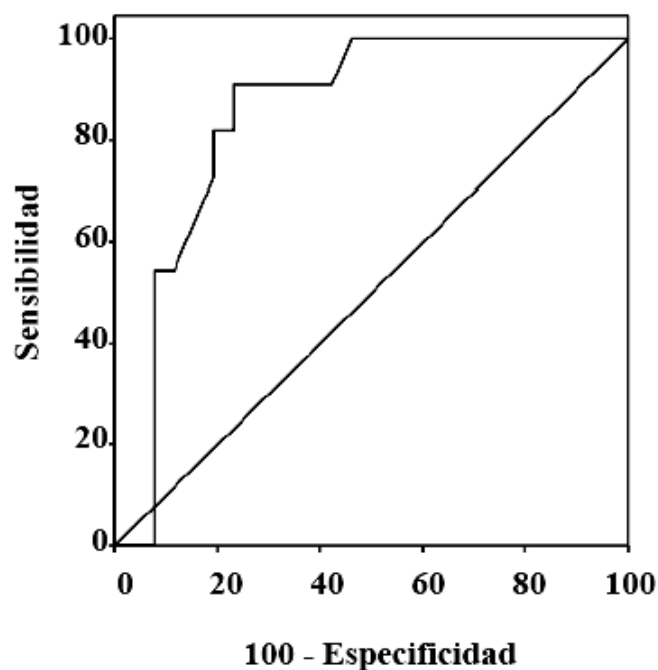
Figura 14. Análisis de los valores de la pendiente de triptasa sérica basal a los 48 meses de seguimiento mediante curvas ROC para predecir la presencia de mutación multilíneal de *KIT*.



Pendiente TSB	ABC	IC 95%	p	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
≥0,15	0,73	(0,6 – 0,86)	0,002	68%	67%	42%	86%

ABC: Área bajo la curva, IC: Intervalo de confianza, VPN: Valor predictivo negativo, VPP: Valor predictivo positivo, TSB: Triptasa sérica basal.

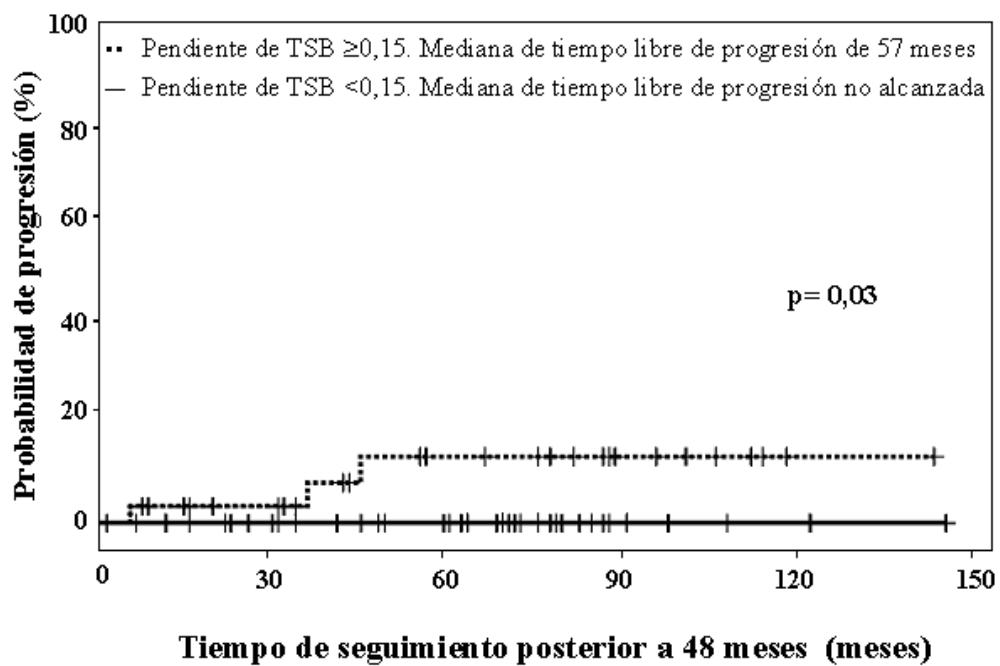
Figura 15. Análisis de los valores de la pendiente de triptasa sérica basal a los 120 meses de seguimiento en 37 pacientes mediante curvas ROC para predecir la presencia de mutación multilineal de *KIT*.



Pendiente TSB	ABC	IC 95%	p	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
≥0,15	0,85	(0,73 - 0,98)	0,001	82%	81%	64%	91%

ABC: Área bajo la curva, IC: Intervalo de confianza, VPN: Valor predictivo negativo, VPP: Valor predictivo positivo, TSB: Triptasa sérica basal.

Figura 16. Probabilidad de progresión de las mastocitosis sistémicas a formas más agresivas de la enfermedad (MSS ó MSA) según la pendiente de triptasa sérica basal (<0.15 frente a ≥ 0.15) tras 48 meses de seguimiento.



	Número en riesgo				
··	29	23	14	7	1
—	43	35	28	7	3

TSB: Triptasa sérica basal.

Figura 17. Probabilidad de progresión de las mastocitosis sistémicas indolentes (n=74) a categorías más agresivas de la enfermedad (MSS ó MSA) según la mutación de *KIT* restringida al mastocito o multilineal.

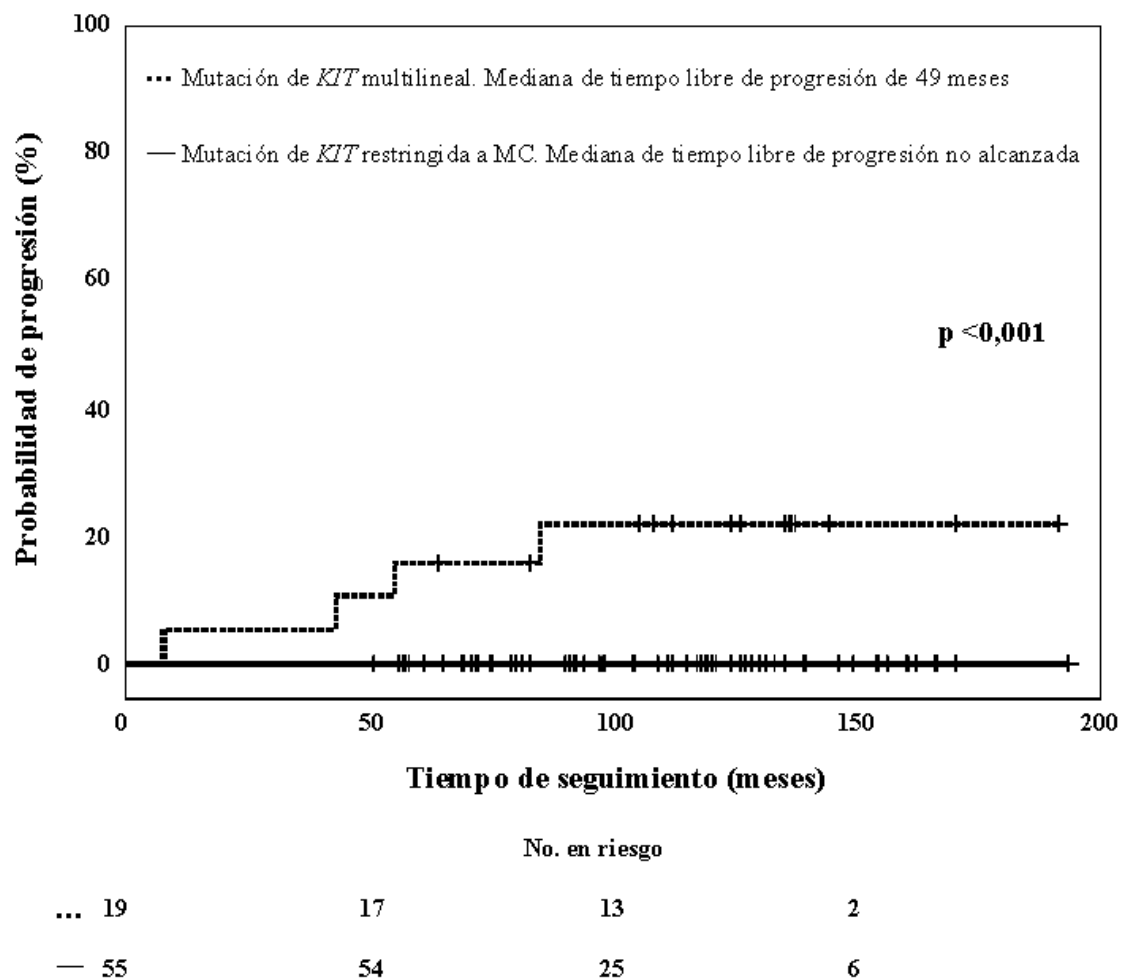


Figura 18. Probabilidad de progresión y supervivencia de las mastocitosis sistémicas indolentes (n= 145).¹⁴¹ Los paneles A-C muestran la probabilidad de progresión según los niveles de $\beta 2$ microglobulina plasmática normales (—) frente a aumentados (---), y el patrón de la mutación de *KIT* restringida al mastocito (—) o multilíneal (---). Los paneles D-G representan la probabilidad de supervivencia acumulada conforme a la presencia (---) o ausencia (—) de otra enfermedad hematológica asociada, los niveles de fosfatasa alcalina sérica aumentados (---) o normales (—), y la edad al diagnóstico superior (---) o inferior a 60 años (—).

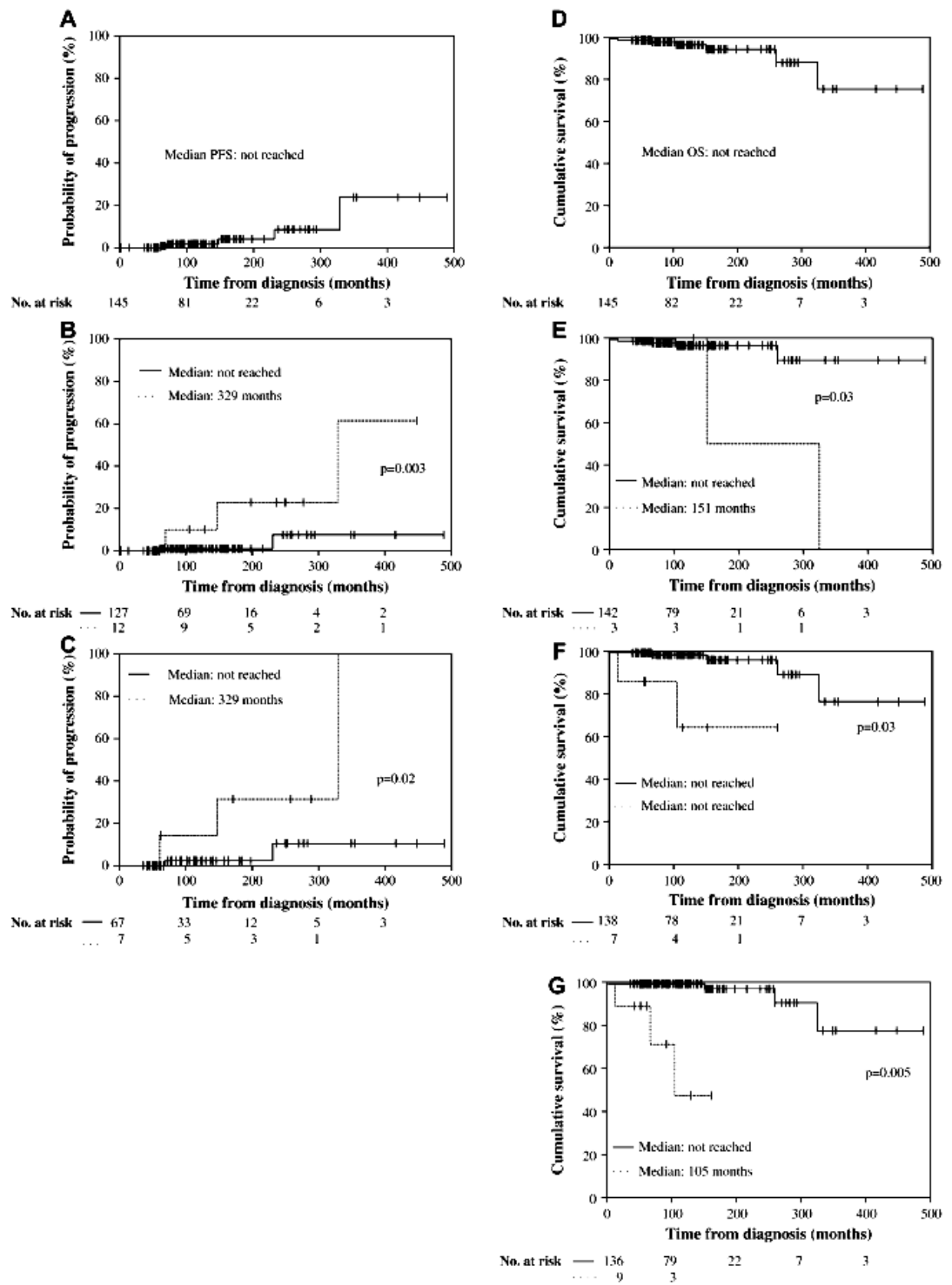
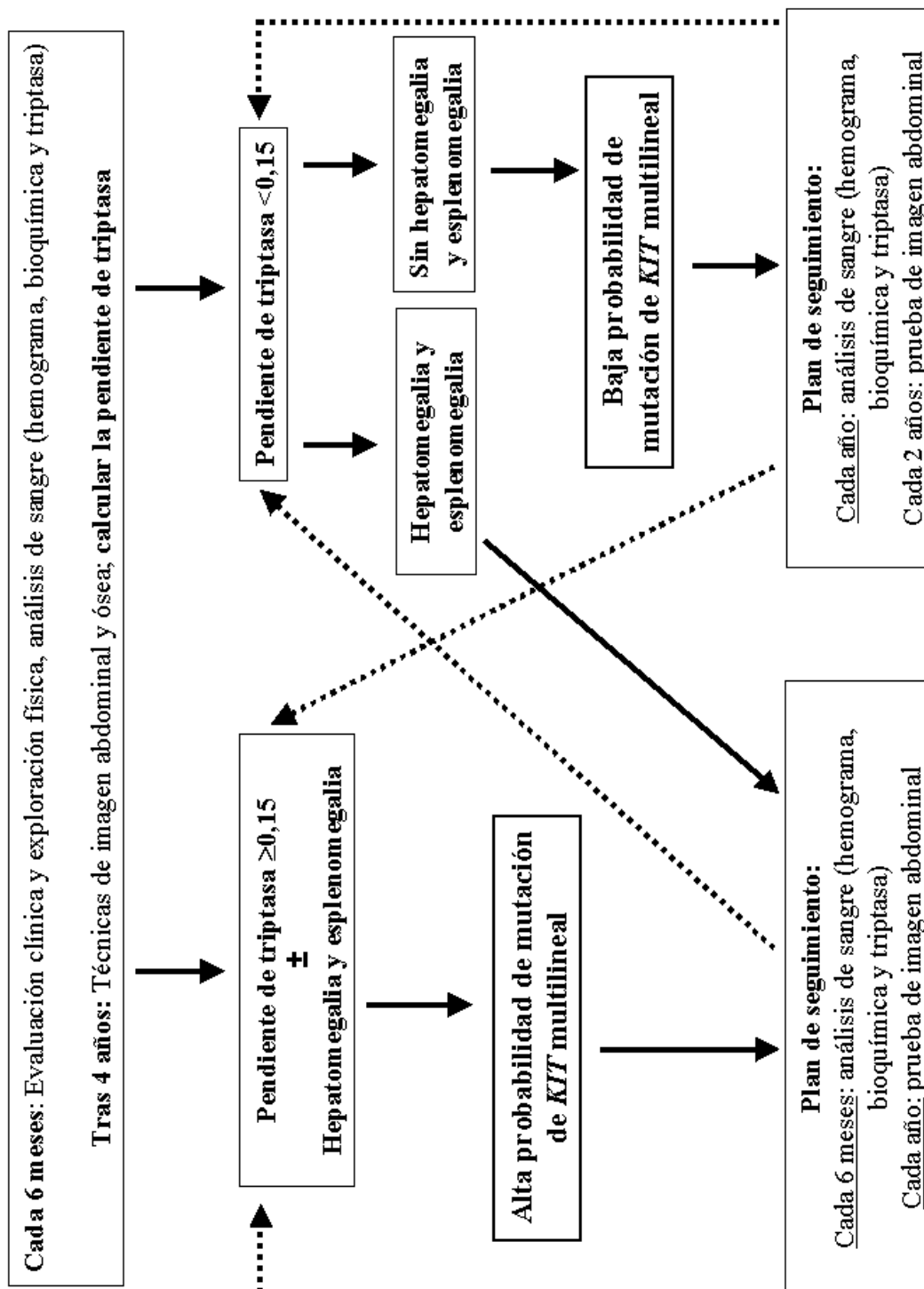


Figura 19. Algoritmo propuesto para realizar el seguimiento de los pacientes con MSI según los valores de la pendiente de triptasa sérica basal.



XI- ANEXOS

ANEXO I. PROTOCOLOS ESPECÍFICOS PARA SITUACIONES DE RIESGO EN LAS MASTOCITOSIS

LAS MASTOCITOSIS

FACTORES DESENCADENANTES DE LA LIBERACIÓN DE MEDIADORES MASTOCITARIOS

PROTOCOLOS ESPECÍFICOS PARA SITUACIONES DE RIESGO

Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla la Mancha (CLMast)

Red Española de Mastocitosis (REMA)

Hospital Virgen del Valle

Complejo Hospitalario de Toledo

Servicio de Salud de Castilla la Mancha (SESCAM)

Luis Escribano, MD, PhD

Director

Coordinador de la Red Española de Mastocitosis

Iván Álvarez Twose, MD

Médico Adjunto

Laura Sánchez Muñoz, MD, PhD

Médico Adjunto

Almudena Matito, MD

Médico Adjunto

José Mario Morgado, Msc

GRANTS

Ministerio de Ciencia e Innovación, Fondo de Investigación Sanitaria, ETS
PI09/90871

INFORMACION DE INTERES PARA LOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE MASTOCITOSIS Y LOS MEDICOS RESPONSABLES

La información a los pacientes es uno de los elementos fundamentales en la práctica médica. Esta afirmación es de especial importancia en aquellas enfermedades cuyos síntomas pueden ser desencadenados por diversos agentes capaces de dar lugar a graves complicaciones. En el caso de las mastocitosis, estos agentes existen y es indispensable que tanto los pacientes como los médicos responsables los conozcan con toda exactitud.

A continuación se detallarán los diversos agentes que pueden dar lugar a la activación de los mastocitos. No todos los pacientes que padecen una mastocitosis se comportan del mismo modo ante los agentes que citaremos más tarde; sin embargo, se asume que la posibilidad de desarrollar complicaciones es mayor que en la población normal sin mastocitosis. Este estudio está basado tanto en la revisión de la literatura médica relacionada con este campo, como en la experiencia clínica de la Unidad de Mastocitosis del Hospital Ramón y Cajal de Madrid, el Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla la Mancha (CLMast) y la Red Española de Mastocitosis (REMA).

Los pacientes llevarán este informe consigo y deberán entregar una copia siempre que acudan a un hospital o a cualquier consulta médica. Es conveniente que los pacientes lleven algún tipo de medalla o brazalete en el que conste específicamente la enfermedad que padecen y el teléfono de urgencias de asistencia durante 24 horas de este centro.

En estos protocolos se solicita que se realice una determinación de triptasa ante ciertas situaciones. Para aquellos centros en los que no resulte posible llevar a cabo esta determinación, existe la posibilidad de remitir la muestra al CLMast. Para ello deben extraer un tubo de bioquímica.

La muestra podrá ser enviada en las primeras 24 horas a temperatura ambiente. Si va a superar las 24 horas, se puede centrifugar el suero y congelar a -20°C.

Primera versión, Madrid Octubre 1997, Hospital Ramón y Cajal

Actualizado en: Diciembre 1999, Mayo 2000, Octubre 2001, Abril 2002, Febrero 2004, Octubre 2004, Octubre 2005, Agosto 2006, Marzo 2007, Septiembre 2008, Septiembre 2009, Febrero 2001 Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla la Mancha (CLMast), Hospital Virgen de Valle, SESCAM, Toledo

NOTA: Esta versión del cuaderno de información para los pacientes ha sido elaborado en Instituto de Estudios para las Mastocitosis del Hospital Virgen del Valle de Toledo y por la Red Española de Mastocitosis. Las versiones anteriores (1994-2005) lo fueron en la Unidad de Mastocitosis del Hospital Ramón y Cajal. Su difusión es libre siempre que se cite expresamente la procedencia del mismo. Esta información han sido publicada en diversos artículos.

Copyright: Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla la Mancha, SESCAM, Hospital Virgen del Valle, Toledo. Red Española de Mastocitosis (REMA). Prohibida su divulgación sin citar expresamente la procedencia.

FACTORES QUE PUEDEN DAR LUGAR A LA LIBERACION DE MEDIADORES POR EL MASTOCITO

1. AGENTES FÍSICOS

1.1. Frecuentes

Calor. Usar agua templada para el baño y la ducha. No frotar con la toalla para secar la piel. Terminar el secado con un secador con aire a temperatura templada

Frío.

Presión. Traumatismos en cuero cabelludo en pacientes que tienen lesiones en esa zona

Rozamiento de las lesiones cutáneas. Se evitarán las maniobras de provocación como el signo de Darier, especialmente en lesiones de gran tamaño (mastocitomas), por el riesgo de liberación masiva de mediadores.

1.2. Excepcionales

Endoscopias (panendoscopia, rectoscopia, colonoscopia).

Manipulación de las asas intestinales durante la cirugía abdominal (L. Escribano, datos no publicados, Abril 2001).

2. FACTORES EMOCIONALES

Estrés (frecuente)

Ansiedad. La irritabilidad puede causar liberación importante de mediadores en los niños (frecuente)

3. MISCELÁNEA

Infecciones o síndromes febriles de cualquier etiología (frecuente)

Dentición en los niños (frecuente)

Vacunaciones en los niños (infrecuente)

4. DROGAS Y MEDICAMENTOS

*AINEs (antiinflamatorios no esteroideos)

Medicamentos empleados para controlar la fiebre y/o el dolor) como la Aspirina (ácido acetilsalicílico), ácido mefenámico, butibufeno, diclofenaco, aceclofenaco, fenbufén, fenilbutazona, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, ketoprofeno, ketorolaco, meclofenamato, metimazol, nabumetona, naproxeno, piroxicam, propifenazona...

Habitualmente el paracetamol es bien tolerado, por lo que su uso no está inicialmente restringido.

Fármacos opiáceos o mórficos.

Estos fármacos se emplean en la anestesia, para controlar el dolor intenso, y en algunos casos como medicamentos para la tos. Entre ellos se encuentran la morfina, codeína, buprenorfina, petidina, dextrometorfano, dimemorfano, fentanilo, tramadol...

****Alcohol**

*****Relajantes musculares empleados en la anestesia general**

*****Inductores empleados en la anestesia general**

No utilizar beta-bloqueantes durante la anestesia general o choque anafiláctico

******Anestésicos locales**

Contrastes empleados para estudios radiológicos diversos

*****Interferón alfa**

Clorodeoxiadenosina o cladribina (2-CDA): Excepcional. Se ha documentado 1 sólo caso (Javed Sheik, comunicación personal, Septiembre 2002)

Hidroxiurea (1 solo caso. Escribano L, Junio 2007)

Coloides

Moléculas de alto peso molecular empleadas en casos de hipotensión o hipovolemia como el dextrano (infrecuente. Incidencia no conocida)

*El porcentaje de reacciones atribuidas a antiinflamatorios no esteroideos es del 2% en las mastocitosis pediátricas, mientras que en adultos este porcentaje es del 14% (Sánchez-Matas I, XXVIII Congreso de la EAACI).

**Excepcional, <0.5% (REMA, datos no publicados 1984-2006)

***Según los datos recogidos por la REMA, de los 73 adultos con mastocitosis intervenidos con anestesia general, 3 sufrieron reacciones severas (2 paradas cardiorrespiratorias y una coagulopatía con shock hipovolémico), en ninguno de estos casos se habían seguido las indicaciones de nuestros protocolos (Matito A, XXIX Congreso de la EAACI). Respecto a las mastocitosis pediátricas, 17 niños han recibido anestesia general, y no se ha producido ninguna reacción severa (CLMast, datos no publicados, Septiembre 2010).

**** Ninguna reacción adversa en 850 biopsias de médula ósea y 1235 biopsias cutáneas. En todos ellos se utilizó la premedicación adecuada (REMA datos no publicados 1984-2006). En 8

casos con historia previa de anafilaxia por estrés, la biopsia de médula ósea se realizó en la UCI con premedicación, anestesia local y sedación (CLMast, datos no publicados, Septiembre 2010).

****Ninguna reacción adversa en 23 casos tratados con interferón en los que se empleó la premedicación citada más abajo y se administraron las 3 primeras dosis en la UCI (Escribano L, datos no publicados 1995-2006)

PROTOCOLOS ESPECIFICOS A SEGUIR EN LOS PACIENTES CON MASTOCITOSIS

A. PROTOCOLO DE ANESTESIA GENERAL

Muchas de las drogas empleadas en la preanestesia, en la fase de inducción y mantenimiento de la misma o en la postanestesia, pueden ser causa de reacciones anafilácticas o anafilactoides, así como de graves alteraciones de la coagulación sanguínea. Estos cuadros se producen por la liberación de mediadores químicos mastocitarios, tanto preformados (histamina, heparina, triptasa) como originados durante el proceso de activación mastocitaria (PGD₂, LTC₄). La capacidad de algunas de estas sustancias para desencadenar la desgranulación mastocitaria ha sido demostrada "in vitro" y, asimismo, se han descrito varios casos de reacciones graves durante la anestesia. Según los datos recogidos respecto a los pacientes atendidos por la REMA, la

frecuencia de reacciones severas durante la anestesia general en adultos es del 4% (Matito A, XXIX Congreso de la EAACI).

El mecanismo por el cual se originan estos cuadros puede ser mediado por los receptores para la inmunoglobulina E, los receptores Fcgamma o a través del sistema del complemento. Los mediadores liberados por cualquiera de los dos mecanismos, actuando sobre los órganos diana como el corazón, vasos, piel, pulmón y otros, pueden dar lugar a trastornos cardíacos, hemodinámicos y metabólicos similares a los observados en una reacción anafiláctica o a graves trastornos de la coagulación.

La anestesia general representa, por lo tanto, un riesgo evidente para los pacientes con mastocitosis o síndromes de activación mastocitaria sistémicos. El protocolo que se presenta a continuación está indicado en todo tipo de patología proliferativa del mastocito y no sólo en las formas agresivas de la enfermedad.

Este protocolo está basado en una revisión exhaustiva de la literatura y en la experiencia del Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla la Mancha –CLMast- y la Red Española de Mastocitosis –REMA-.

A.1. PREPARACIÓN GENERAL

A1.1. Corticoides, como la prednisona o metilprednisolona: 1 mg/kg de peso IV, 8 horas y 1 hora antes de la anestesia (opcional).

A.1.2. Maleato de dexclorfeniramina (Polaramine®): 5 mg IV 1 hora antes de la anestesia*.

A.1.3. Ranitidina: 100 mg IV disueltos en 50 ml de suero fisiológico 1 hora antes de la anestesia*.

A.1.4. Montelukast (Singulair®): 1 comprimido de 10 mg 24 horas antes y otro 1 hora antes (M. Castells, comunicación personal, Octubre 2002)

*En niños ajustar la dosis de esta medicación según peso.

A.2. PREMEDICACION

A.2.1. La sedación es muy importante para evitar la ansiedad. Las benzodiacepinas pueden ser empleadas.

A.3. INDUCCION Y MANTENIMIENTO

A.3.1. Etomidato (inducción). Dosis: 0,3 mg/kg de peso

A.3.2. Inhalatorios fluorados.

A.3.2. Propofol. Dosis: 2-4 mg/kg de peso

A.3.3. Ketamina. Dosis: 1-4,5 mg/kg de peso

Durante la fase de mantenimiento se utilizará una concentración suficiente para mantener una anestesia profunda.

A.4. RELAJANTE MUSCULAR

A.4.1. Vecuronio. Dosis: 0,1 mg/kg de peso

A.5. OTRAS CONSIDERACIONES

A.5.1. La morfina y sus derivados deben ser excluidas como analgésicos en las mastocitosis.

De acuerdo a los datos de la REMA, se han identificado un total de 24 intervenciones en adultos (18 anestesiases generales, 4 epidurales y 2 sedaciones) en las que se han empleado meperidina, fentanilo o remifentanilo, apareciendo 1 reacción severa en 1 caso sometido a anestesia general, sin premedicar y empleando anestésicos diferentes a los indicados en este protocolo. (CLMast, datos no publicados, Junio 2009).

Se considera como excepción en este grupo, el uso de fentanilo y remifentanilo si se constata que se han empleado previamente padeciendo el paciente mastocitosis sin que se haya producido ninguna reacción adversa.

A.5.2. Los coloides puede provocar reacción anafiláctica en las mastocitosis y no deben ser utilizados.

A.5.3. No emplear bloqueantes β -adrenérgicos ni α -adrenérgicos.

A.5.4. Determinación de la triptasa total en suero antes, durante y después de la cirugía.

A.6. ANALGESIA

Se utilizarán fármacos que el paciente haya tolerado previamente. Es importante que los pacientes lleven un informe de un Centro Especializado en el que conste este punto. Si no se conoce deberán realizarse una administración controlada con los

fármacos correspondientes en una Unidad Especializada bajo estricta vigilancia y con la monitorización adecuada.

A.7. TRATAMIENTO DE LOS EPISODIOS DE LIBERACION AGUDA DE MEDIADORES DURANTE LA ANESTESIA

A.7.1. Choque anafiláctico:

Epinefrina, Actocortina, antihistamínicos H1 y H2, y Glucagón (en caso de que el paciente se encuentre bajo los efectos de β -bloqueantes).

A.7.2. Hipotensión severa:

Fluidoterapia (no coloides), Dopamina, Dobutamina.

A.7.3. Síndrome hemorrágico:

Tratamiento según las anomalías detectadas en el estudio de coagulación. Pensar en la posibilidad de hiperfibrinólisis

B. PROTOCOLO DE ANESTESIA LOCAL

Las técnicas de anestesia loco-regional deben considerarse como procedimientos de elección en estos pacientes. Por ello, siempre que sea posible, deberían sustituir a la anestesia general.

Las normas que se citan a continuación son aplicables para todo tipo de anestesia loco-regional; desde una biopsia cutánea o de médula ósea hasta el bloqueo epidural, la anestesia intrarraquídea o el bloqueo de plexos.

B.1. Debe administrarse premedicación antimediodora previa a la anestesia e iniciar la intervención.

B.1.1. Dexclorfeniramina (Polaramine®): 6 mg VO ó 5 mg IV 1 hora antes de la anestesia. Ajustar dosis según peso en niños.

B.1.2. Ranitidina: 150 mg VO ó 100 mg IV disueltos en 50 ml de suero fisiológico 1 hora antes de la anestesia. Ajustar dosis según peso en niños.

B.1.3. Benzodiacepinas (Valium 5 mg u otras) VO ó IV 1 hora antes de la anestesia, en aquellos adultos en los que se prevea que la intervención pueda desencadenar ansiedad. En niños se procederá a realizar sedación según la necesidad y criterio del anestesista.

B.1.3. Prednisona 1 mg/Kg de peso VO ó IV 1 hora antes de la anestesia. Opcional, sólo en intervenciones de envergadura, no es necesaria su administración para realizar intervenciones dentales ni endoscopias*.

B.2. Deben emplearse derivados de tipo amida como la bupivacaína, la lidocaína y la mepivacaína. Nuestro grupo tiene mayor experiencia con bupivacaína y mepivacaína. Los anestésicos locales que contienen el grupo éster como la procaína, la cloroprocaína y la pontocaína están contraindicados.

*Si se realiza una **endoscopia** o cualquier otra intervención que pueda suponer estrés para el paciente, se debe administrar premedicación antiedematosa aunque se realice sin anestesia, ya que tanto el propio estrés como la manipulación del sistema digestivo pueden condicionar la activación mastocitaria con la consiguiente liberación de sus mediadores.

C. EXPLORACIONES RADIOLOGICAS CON CONTRASTE

Tanto la experiencia clínica, como los estudios “in vitro”, han demostrado que la mayor parte de los medios de contraste radiológicos intravenosos pueden producir, por diversos mecanismos, liberación de mediadores mastocitarios. Por ello, y siempre que sea posible, se evitarán este tipo de exploraciones.

Si fuera imprescindible su utilización, son de elección los medios de contraste no iónicos (de baja osmolaridad) por su menor capacidad para inducir desgranulación mastocitaria. Forma parte de este grupo el iohexol, iopamidol, iopromida, ioxelán, ioversol, idolatrán e iodixanol.

La exploración se llevará a cabo bajo estricta vigilancia y con la monitorización adecuada.

Todos los pacientes deberán recibir mediación para prevenir la liberación de mediadores mastocitarios antes de administrar el contraste radiológico IV*:

C.1. Dexclorfeniramina (Polaramine®):

6 mg VO ó 5 mg IV 1 hora antes de la administración

C.2. Ranitidina:

150 mg VO ó 100 mg IV disueltos en 50 ml de solución salina fisiológica 1 hora antes de la administración

C.3. Prednisona:

1 mg/kg de peso VO ó IV 13, 7 y 1 hora antes de la administración. Estas 3 dosis son opcionales, pudiendo realizarse modificaciones si no hay antecedentes de un episodio de liberación previo con contrastes radiológicos.

C.4. Montelukast (Singulair®):

1 comprimido de 10 mg 24 horas antes y otro 1 hora antes de la administración (M. Castells, comunicación personal, Octubre 2002).

Sólo en los casos con antecedentes de episodio de liberación de mediadores tras la administración de contraste.

*En aquellos pacientes que además refieran haber presentando una reacción alérgica o episodios de liberación de mediadores mastocitarios con un medio de contraste radiológico, está indicado realizar un estudio alergológico para en posteriores exploraciones elegir el contraste frente al que el paciente no se encuentre sensibilizado (mecanismo IgE mediado).

*El sulfato de bario es un contraste radiológico oral, que tiene una reactividad química prácticamente nula, por lo que no es necesario recibir premedicación antes de tomarlo.

D. PARTO

Se puede realizar anestesia epidural o anestesia general según los protocolos anteriores. La premedicación es fundamental ya que tanto el trabajo del parto como el estrés pueden inducir cierta liberación de mediadores mastocitarios.

Como inductor del parto se puede emplear la oxitocina.

Para la técnica epidural, sólo se puede emplear fentanilo o remifentanilo en aquellos casos en los que la paciente padeciendo mastocitosis los hayan recibido y tolerado.

En la REMA contamos con la experiencia de un total de 45 partos (10 de ellos casáreas) en mujeres con mastocitosis. Se han empleado las siguientes técnicas anestésicas: 32 epidurales, 2 generales y 3 locales; sin que se haya producido ninguna reacción severa. (Matito A, Int Arch Allergy Immunol 2011).

D.1 Premedicación antimediodora (al iniciar el trabajo del parto y/o 1 hora antes de recibir a anestesia)

D.1.1. Maleato de dexclorfeniramina (Polaramine®): 5 mg IV

D.1.2. Ranitidina: 100 mg IV disueltos en 50 ml de suero fisiológico

D.1.3. Prednisona: 1 mg/kg de peso VO ó IV 8 y 1 hora antes de recibir la anestesia (opcional)

D.2. Determinación de la triptasa total en suero antes y después del parto.

E. CONDUCTA A SEGUIR EN CASOS DE SÍNTOMAS DE LIBERACIÓN TRAS PICADURA DE INSECTOS COMO ABEJAS O AVISPAS (SE HAN PRODUCIDO ALGÚN CASO AISLADO CON OTROS INSECTOS)

E. 1. Reacciones leves/moderadas

E.1.1. En las reacciones locales o en reacciones sistémicas sin colapso vascular, tanto en adultos como en niños (ajustar las dosis según el peso), se emplearán antihistamínicos H1 (ej. Polaramine®) y H2 (ranitidina), junto con prednisona mg/kg de peso.

E.1.2. Los pacientes con antecedentes de haber presentado estas reacciones por picaduras de insectos deberán llevar consigo: prednisona y dexclorfeniramina (Polaramine®).

En caso de picadura y presentar síntomas de liberación (picor, enrojecimiento, ronchas, hinchazón de labios, párpados...), tomarán:

Dexclorfeniramina (Polaramine®) de 6 mg vía oral (3 comprimidos de 2 mg) en adultos, y según el peso en niños 0,04 mg por cada kg de peso (en el jarabe 5 ml contienen 2 mg de medicamento).

Prednisona 1 mg por Kg de peso por vía oral (Ej: 50 kg de peso corresponden a 50 mg de prednisona).

Es conveniente que acuda a un servicio de urgencias para controlar la evolución de los síntomas, y recibir más tratamiento si lo precisa; así como que se realice una extracción de sangre para determinación de triptasa.

E.2. Shock anafiláctico

E.2.1. Tumbar al paciente inmediatamente

E.2.2. La adrenalina sólo debe emplearse en pacientes con cuadro sistémico e hipotensión severa, sensación de cierre de garganta (angioedema de úvula o laringe), dificultad respiratoria ó pérdida de conocimiento.

NUNCA si se trata exclusivamente de reacciones locales ó sin riesgo vital.

ANTE LA SOSPECHA DE QUE EL PACIENTE ESTÉ SUFRIENDO UN SHOCK ANAFILÁCTICO SE RECOMIENDA ADMINISTRAR LA ADRENALINA

E.2.3. En los adultos se administrará inmediatamente una ampolla autoinyectable de ADRENALINA (Altellus® 0,3 mg, Jext® 300) ó adrenalina al 1/1000 0,3 a 0,5 ml por vía INTRAMUSCULAR. Para ello, todos los pacientes y familiares deberán ser entrenados previamente. Los dispositivos autoinyectables deberán renovarse teniendo en cuenta la fecha de caducidad.

E.2.4. En los niños, en el caso de que necesiten adrenalina, se administrará inmediatamente una ampolla autoinyectable de ADRENALINA (Altellus® 0,15 mg, Jext® 150) ó adrenalina al 1/1000 INTRAMUSCULAR ajustada según el peso 0,01 mg/kg (Ej: 10 Kg corresponden a 0,1 cc).

E.2.5. El paciente deberá ser trasladado con carácter urgente al Hospital más próximo. Es imprescindible que se les haga una determinación de triptasa en suero.

CONTACTOS

Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla a Mancha (CLMast)

Red Española de Mastocitosis (REMA)

Hospital Virgen del Valle, 3ª planta

Carretera de Cobisa s/n. Toledo 45071, España

Clínica: Luis Escribano, MD, PhD

E: lescribanom@sescam.jccm.es

Iván Álvarez-Twose, MD

E: ivana@sescam.jccm.es

Almudena Matito, MD

E: amatito@sescam.jccm.es

Laboratorio: Laura Sánchez Muñoz

E: lsmunoz@sescam.jccm.es

Jose Mario Morgado; Msc

E: jmtenera@sescam.jccm.es

Teléfonos: Dr. Escribano +34-925269335/ 638226228

Dr. Álvarez +34-925269336

Dra. Matito +34-925265402

Urgencias 24 horas: +34-638226196

Enfermería: +34925265407

Secretaría: +34-925269334

Secretaría: secretariaclmast.cht@sescam.jccm.es (citas, envío de documentación, preguntas sobre órdenes de canalización, y cualquier asunto no relacionado con problemas médicos)

Enfermería: rmprada@sescam.jccm.es

Asociación Española de Pacientes con Mastocitosis (AEDM): www.aedm.org

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

Scott HW Jr, Parris WC, Sandidge PC, Oates JA, Roberts LJ. Hazards in operative management of patients with systemic mastocytosis. *Ann Surg* 1983;197:507-514.

Desborough JP, Taylor I, Hattersley A, Garden A, Wolff A, Bloom SR et al. Massive histamine release in a patient with systemic mastocytosis. *Br J Anaesth*. 1990;65:833-836.

Greenblatt EP, Chen L. Urticaria pigmentosa: An anesthetic challenge. *J Clin Anesth* 1990;2:108-115.

Lerno G, Slaats G, Coenen E, Herregods L, Rolly G. Anaesthetic management of systemic mastocytosis. *Br J Anaesth* 1990;65:254-257.

Stellato C, De Paulis A, Cirillo R, Mastronardi P, Mazzarella B, Marone G. Heterogeneity of human mast cells and basophils in response to muscle relaxants. *Anesthesiology* 1991;74:1078-1086.

Marone G, Stellato C. Activation of human mast cells and basophils by general anaesthetic drugs. *Monogr Allergy* 1992;30:54-73.

Stellato C, Marone G. Mast cells and basophils in adverse reactions to drugs used during general anesthesia. *Chem Immunol* 1995;62:108-131.

Borgeat A, Ruetsch YA. Anesthesia in a patient with malignant systemic mastocytosis using a total intravenous anesthetic technique. *Anesth Analg* 1998;86:442-444.

Fisher MM, Baldo BA. Mast cell tryptase in anaesthetic anaphylactoid reactions. *Br J Anaesth* 1998;80:26-29.

Vaughan STA, Jones GN. Systemic mastocytosis presenting as profound cardiovascular collapse during anaesthesia. *Anaesthesia* 1998;53:804-807.

Worobec AS, Akin C, Scott LM, Metcalfe DD. Mastocytosis complicating pregnancy. *Obstet Gynecol* 2000;95:391-395

Auvray L, Letourneau B, Freysz M. Mastocytosis: general anesthesia with remifentanyl and sevoflurane. *Ann Fr Anesth Reanim* 2001;20:635-638.

Tirel O, Chaumont A, Ecoffey C. Circulatory arrest in the course of anesthesia for a child with mastocytosis. *Ann Fr Anesth Reanim* 2001;20:874-875.

Escribano L, Akin C, Castells M, Orfao A, Metcalfe D. Mastocytosis: Current concepts in diagnosis and treatment. *Ann Hematol* 2002;81:677-690.

Escribano L, Akin C, Castells M, Schwartz LB. Current options in the treatment of mast cell mediator-related symptoms in mastocytosis. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2006;5:61-77.

Carter MC, Uzzaman A, Scott LM, Metcalfe DD, Quezado Z. Pediatric mastocytosis: routine anesthetic management for a complex disease. *Anesth Analg* 2008;107:422-427

Ahmad N, Evans P, Lloyd-Thomas AR. Anesthesia in children with mastocytosis-a case based review. *Paediatr Anaesth* 2009;19:97-107.

Matito A, Álvarez-Twose I, Sánchez-Muñoz L, Morgado JM, Orfao A, Escribano L. Clinical impact of pregnancy in mastocytosis: a study of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA) in 45 cases. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;156(1):104-111.

GUÍAS CLÍNICAS

Escribano L, González de Olano D, de la Hoz Caballer B, Esteban López I, Sánchez Fernández I. Mastocytosis: guías para su diagnóstico y tratamiento En: Peláez Hernández A, Dávila González IJ eds. *Tratado de Alergología*. 1 ed. Madrid: Ergon; 2007. p. 1241-1262.

ANEXO II. COMUNICACIONES CIENTÍFICAS Y MENCIONES GENERADAS EN EL CURSO DE LA PRESENTE TESIS DOCTORAL

Late Breaking Oral Abstract Session 3

Novel laboratory and clinical methods in allergic diseases

1718

Improved diagnosis of hymenoptera venom allergy using a panel of species-specific major allergens

Hofmann, S¹; Pfender, N¹; Weckesser, S¹; Blank, S²; Huss-Marp, J³; Spillner, E²; Jakob, T¹
¹University Medical Center Freiburg, Allergy Research Group, Department of Dermatology, Freiburg, Germany; ²University of Hamburg, Department of Chemistry, Institute of Biochemistry and Molecular Biology, Hamburg, Germany; ³Phadia GmbH, Freiburg, Germany

Background: Diagnosis of hymenoptera venom allergy is usually based on clinical history, skin prick tests and detection of IgE to bee and wasp venom. Detection of IgE using conventional venom extracts demonstrates double positivity in about 50–60% of patients with a history of systemic insect sting reactions. Double positivity may reflect true cosensitization to bee and wasp venom or may be caused by crossreactivity of highly homologous venom allergens or by crossreactive carbohydrate determinants (CCD) present on many venom allergens. Here, we used a panel of recombinant (r) or native (n) honey bee and wasp venom allergens devoid of CCD reactivity for the diagnosis of hymenoptera venom allergy.

Methods: Sera from 82 and 109 patients with anaphylactic reactions and positive skin tests to honey bee or wasp venom, respectively, were analyzed for IgE reactivity to rApi m 1, rVes v 1, and rVes v 5 using the commercially available ImmunoCAP and to rApi m 2 and nApi m 4 using a research prototype ImmunoCAP (Phadia).

Results: In BV allergic patients specific IgE was detected in 62/82 patients (75.6%) to rApi m 1, 38/82 (46.3%) to rApi m 2 and 22/82 (26.8%) to nApi m 4. Combination of rApi m 1 and rApi m 2 led to a positive test result in 72/82 (87.8%), addition of nApi m 4 to confirmation of BV allergy in 73/82 (89%) patients. Among wasp venom allergic patients, 63/109 (57.8%) displayed specific IgE to rVes v 1, and 98/109 (89.9%) to rVes v 5. Combination of rVes v 1 and rVes v 5 led to a positive test result in 105/109 (96.3%) wasp venom allergic patients. None of 40 wasp venom allergic patients displayed IgE to rApi m 1, rApi m 2, and nApi m 4. Similarly, none of 40 BV allergic patients reacted with rVes

v 1 and only 2/40 with rVes v 5 (corresponding to a specificity for each allergen of at least 95%).

Conclusion: Component-resolved serological diagnosis of hymenoptera venom allergy based on a panel of CCD free species-specific major allergens including rApi m 1, rApi m 2, nApi m 4, rVes v 1, and rVes v 5 improves sensitivity and specificity compared to conventional venom extracts. It leads to a better discrimination of honey bee and wasp venom allergy which is relevant for the selection of the appropriate venom for immunotherapy. In the future, use of additional allergens such as Api m 3 and Api m 10 may allow an even higher diagnostic accuracy.

1719

Impact of KIT mutation in the evolution of serum basal tryptase levels in indolent systemic mastocytosis

Matito, A¹; Pedreira, C²; Sanchez-Munoz, L¹; Alvarez-Twose, I¹; Morgado, J¹; Jara-Acevedo, M²; Teodosio, C²; Garcia-Montero, A²; Orfao, A²; Escribano, L¹

¹Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla La Mancha, Spanish Network on Mastocytosis (REMA), Toledo, Spain; ²Centro de Investigacion del Cancer/IBMCC, Servicio General de Citometria, Universidad de Salamanca, Spanish Network on Mastocytosis (REMA), Salamanca, Spain

Background: Serum baseline tryptase (sBT) correlates with bone marrow (BM) mast cell (MC) burden in systemic mastocytosis (SM). The presence of KIT mutation in all hematopoietic cell lineages (multilineal KIT mutation -ML-) is associated with a poor outcome in indolent SM (ISM). The objective of this study is to explore the value of sBT in the follow-up of ISM and the prediction of ML.

Methods: sBT was periodically determined for at least 4 years in 75 ISM patients. Variation in sBT was analysed by linear regression, and slope values equal to 0, positive or negative indicate a stable, increasing or decreasing curve of evolution, respectively. Study of KIT mutations were performed in highly purified MC and other cell lineages.

Results: Multilineal KIT mutation was detected in 19/75 cases (25%). The median time from the onset to the first sBT determination was: 70 (0–254) and 72 (1–463) months ($P > 0.05$), while the median fol-

low-up was of 107 (50–172) and 94 (51–173) months ($P > 0.05$), in the ML and non-multilineal KIT mutation (nML) cases, respectively. The median sBT at the first study was significantly higher in ML than in nML group: 46.3 (8.3–148) versus 23.3 (2.5–199) ng/mL ($P = 0.01$), whereas median sBT at the time this study was closed was of 88.2 (15.7–1300) versus 26.9 (4.5–216) ng/mL in the ML and nML groups, respectively ($P < 0.001$). The median slope variation at 48 months of follow-up was significantly higher in ML than in nML group: 0.31 (-0.44 to 12.44) versus 0.04 (-2 to 1.93) $P = 0.002$; and 0.3 (-0.82 to 21.42) versus 0.045 (-0.75 to 0.83) at the total follow-up, respectively ($P < 0.001$). Diffuse bone sclerosis was developed in 5/19 and 1/56 patients in the ML and nML groups ($P = 0.003$); and two ML cases progressed to a more aggressive category of the disease.

Conclusion: The presence of multilineal KIT mutation in ISM is associated with a progressive increase in sBT during the evolution, and a higher probability to develop diffuse bone sclerosis and disease progression.

1720

A study of urinary LTE4 and EDN as markers of disease severity in children with atopic dermatitis

Pyun, B; Yang, H; Jeon, Y; Min, T
 Soon Chun Hyang University Hospital, Pediatrics, Seoul, Republic of Korea

Background: Severity of atopic dermatitis can be measured by various scoring system including SCORAD (SCORing Atopic Dermatitis) index, EASI (Eczema Area and Severity Index) score, SASSAD (Six Area, Six Sign Atopic Dermatitis) score, etc. However all of them are quite subjective methods. Objective markers of disease severity of atopic dermatitis is needed. Urinary Leukotrien E4 (LTE4) reflects whole-body cysteinyl-leukotriene production and several *in vivo* and *in vitro* studies suggest a role for cysteinyl leukotrienes in the pathogenesis of atopic dermatitis. And it has been reported that measurements of eosinophil-derived neurotoxin (EDN) may be useful for identifying eosinophil activities in allergic diseases including atopic



30th Congress of the
European Academy of
Allergy and Clinical Immunology



Oral Abstract Prize

Almudena Matito

has been awarded for an
outstanding oral presentation of the abstract

1719 – Impact of KIT mutation in the evolution of serum basal
tryptase levels in indolent systemic mastocytosis

at the
EAACI Congress 2011
11 – 15 June, Istanbul, Turkey

Ömer Kalaycı
Congress 2011 President

Jan Lötvalld
EAACI President

EMBRN-COST International Mast Cell and Basophil Meeting

26-27 November 2012

Berlin

Programme & Abstract Book



www.mcbm.de

SERUM BASAL TOTAL TRYPTASE MONITORING IN INDOLENT SYSTEMIC MASTOCYTOSIS ASSOCIATION WITH MULTILINEAGE INVOLVEMENT BY THE KIT MUTATION AND DISEASE OUTCOME

Almudena Matto^{1,5}, Iván Álvarez-Twose^{1,5}, José Mario Morgado^{1,5}, Laura Sánchez-Muñoz^{1,5}, Carlos Pedreira^{1,5}, María Jara-Acevedo^{1,5}, Cristina Teodosio^{1,5}, Elisa Fernández-Núñez^{1,5}, Ricardo Moreno-Borquez^{1,5}, Paula Sánchez-López^{1,5}, Andrés García-Montero^{1,5}, Alberto Orfao^{1,5}, Luis Escribano^{1,5}.

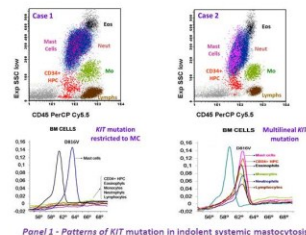
¹Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla-La Mancha, Hospital Virgen del Valle, Toledo, Spain; ²Faculty of Medicine and COPPE, Engineering Graduate Program, UFRJ/Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; ³Servicio General de Citometría, Centro de Investigación del Cáncer/IBMC (USAL/CSIC) and Departamento de Medicina, Universidad de Salamanca, Salamanca, Spain; ⁴Hospital Rey Juan Carlos, Móstoles, Spain; ⁵Spanish Network on Mastocytosis (REMA).



Background

Systemic mastocytosis (SM) includes a heterogeneous group of disorders with increased mast cell (MC) numbers in different organs and tissues (1, 2). The clonal nature of mastocytosis can be established in virtually every case through demonstration of exon-17 KIT mutations in MC (3, 4), except for a rare subset of well-differentiated SM patients (3-8). Noteworthy, presence of KIT mutation in all bone marrow (BM) hematopoietic lineages (e.g. myeloid and lymphoid BM cells) is associated with increased risk of transformation into a more aggressive category of the disease (9). However, assessment of multilineal KIT mutation requires sophisticated molecular analyses of multiple (highly-purified) cell populations, an approach that is not readily available in many centers for routine diagnosis.

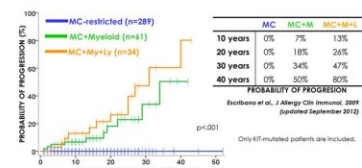
Tryptases are proteases located in MC granules and - in smaller quantities - also in blood basophils (10). Increased total serum baseline tryptase (sBT) in SM has long been described (11, 12) and, more recently, sBT >20 ng/mL was adopted as a minor diagnostic criterion for SM (1, 2), although lower cut-off values may also be highly informative (13, 14). However, no study has been reported so far in which the value of sBT monitoring has been investigated in indolent systemic mastocytosis (ISM), either directly or through its potential association with the most relevant prognostic factors (e.g. multilineal involvement of BM cells by the KIT mutation). Here, we investigated the potential association between sBT monitoring and both the presence of multilineal KIT mutation and patient outcome, in a series of 74 adult ISM patients treated with conservative measures.



Panel 1 - Patterns of KIT mutation in indolent systemic mastocytosis

Diagnosis	N. Of cases	%D816V	% of exon 17 KIT mutation	Other mutations
ISMst	255	97%	98%	D816V, D816H
ISMst	99	90%	97%	D816V, D816H, Ins Vt 815-816
ASM	29	100%	100%	
SM-AHNMD				
ASM-AHNMD	12	100%	100%	
ISM-AHNMD	13	100%	100%	
Total	408	96%	97%	

Panel 2 - SM: FREQUENCY OF KIT MUTATIONS IN PURIFIED MC (Updated Sep 2012)



Panel 3 - ISM: Impact of the pattern of involvement of hematopoiesis by the KIT mutation on disease progression* (n=384)

Patients

74 ISM

Inclusion criteria

- ≥ 3 sBT in basal clinical conditions, in a minimum period of 48 months
- KIT mutational analysis performed in highly purified mast cells -MC- and other hematopoietic lineages
- Absence of diffuse bone sclerosis at first tryptase determination
- No cytoreductive therapy

Methods

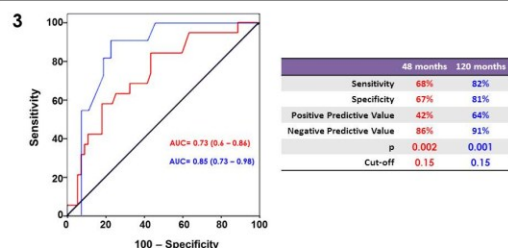
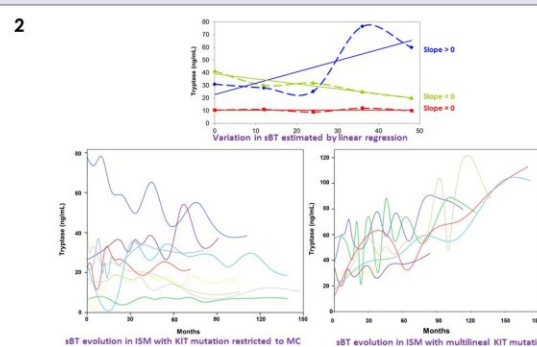
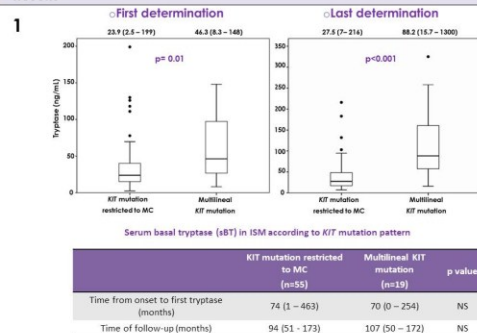
sBT determinations were carried out by using the ImmunoCAP Tryptase System (Phadia/Thermo Fisher)

Bone marrow study. Cytology (MGG and toluidine blue), histology and immunohistochemistry (tryptase, c-kit, CD25). Flow cytometry/immunophenotyping (bone marrow mast cell numbers, CD25 and CD2)

Isolation of BM MC and other hematopoietic cells was performed using a fluorescence-activated cell-sorting flow cytometer (FACSARIA)

KIT mutation was performed in highly purified (>97% purity) cell populations by a peptide nucleic acid (PNA)-mediated PCR clamping technique

Results



Conclusions

- A marked increase in serum basal tryptase (sBT slope ≥ 0.15) after 48 months of follow-up is usually associated with the presence of multilineal KIT mutation
- Multilineal KIT mutation is associated with a higher risk to develop diffuse bone sclerosis and progression to a more aggressive category of the disease
- Monitoring of sBT (sBT slope) is a powerful tool in the follow-up of ISM and should be applied in a routine basis when specific investigation of KIT mutation pattern is not available

References

- Valent P, et al. Mastocytosis (Mast cell disease). In: World Health Organization (WHO) Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press, 2001:291-302.
- Homy HP, et al. Mastocytosis. In: WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC, 2008:54-63.
- García-Montero AC, et al. Blood. 2006;108(2366-72).
- Orfao A, et al. Br J Haematol. 2007;138(12-30).
- Alkin C, et al. Blood. 2004;103:3222-5.
- Teodosio C, et al. J Allergy Clin Immunol. 2010;125(7):19-26.
- Sanchez-Munoz L, et al. Methods Cell Biol. 2011;103:333-59.
- Sanchez-Munoz L, et al. Mod Pathol. 2011;24(1):57-68.
- Escribano L, et al. J Allergy Clin Immunol. 2009;124(5):14-21.
- Castells M, et al. J Immunol. 1987;138(2):84-9.
- Schwartz LB, et al. N Engl J Med. 1987;316(16):1022-6.
- Schwartz LB, et al. J Clin Invest. 1985;96(2):702-10.
- Melchiorre DD, et al. J Allergy Clin Immunol. 2009;123(6):87-8.
- Banadonna P, et al. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2010 Aug;10(4):347-53.